

Die kürzere Lebensspanne bei Ratten mit niedriger intrinsischer
körperlicher Leistungsfähigkeit ist mit früherer Dysfunktion
muskulärer Mitochondrien assoziiert

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von Estelle Heyne
geboren am 10.03.1990 in Jena**

Gutachter

1. PD Dr. rer. nat. habil. Michael Schwarzer

2. Prof. Dr. rer. nat. Britt Wildemann

3. PD Dr. rer. nat. habil. Volker Adams

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01.09.2020

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
Zusammenfassung	8
1 Einleitung	10
1.1 Altern	10
1.2 Mitochondrien	11
1.3 Körperliche Leistungsfähigkeit	14
1.4 Modell der Ratten mit hoher und niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit	16
2 Methodik	18
2.1 Tiermodell	18
2.2 Studiendesign	18
2.3 Körperliche Leistungsfähigkeit	18
2.4 Glukose- und Insulintoleranztest	19
2.5 Echokardiografie	19
2.6 Organentnahme	21
2.7 Mitochondrienfunktion	21
2.7.1 Mitochondrienisolation	21
2.7.2 Citratsynthaseaktivität	22
2.7.3 Durchflusszytometrie	23
2.7.4 Bestimmung der respiratorischen Kapazität der Mitochondrien	23
2.7.5 Proteinbestimmung	26
2.7.6 Mitochondriale ROS-Produktion	27
2.7.7 Calcium-induziertes Anschwellen der Mitochondrien	28
2.8 Aktivität antioxidativer Enzyme	28
2.9 Oxidative Proteinschäden	30
2.10 Oxidative Lipidschäden	30
2.11 Statistik	32

3	Ergebnisse	33
3.1	Unterschiede zwischen adulten und alten Ratten mit hoher oder niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit	33
3.1.1	Körperliche Leistungsfähigkeit	33
3.1.2	Glukose- und Insulintoleranz	34
3.1.3	Kardiale Funktion.....	35
3.1.4	Morphometrie der Tiere	36
3.1.5	Mitochondriale Funktion.....	38
3.1.6	Aktivität antioxidativer Enzyme im Gewebe	53
3.1.7	Oxidative Schäden im Gewebe	55
3.2	Unterschiede zwischen alten und seneszenten Ratten mit hoher körperlicher Leistungsfähigkeit	57
3.2.1	Körperliche Leistungsfähigkeit	57
3.2.2	Glukosetoleranz.....	58
3.2.3	Kardiale Funktion.....	59
3.2.4	Morphometrie der Tiere	60
3.2.5	Mitochondriale Funktion.....	61
4	Diskussion.....	68
	Literatur- und Quellenverzeichnis.....	81
5	Anhang.....	I
5.1	Weitere Daten	I
5.2	Geräte und Instrumente	XIII
5.3	Verbrauchsmaterialien.....	XIII
5.4	Chemikalien.....	XIII
5.5	Medikamente	XV
	Abbildungsverzeichnis	XVI
	Tabellenverzeichnis.....	XVIII
	Publikation und Präsentationen.....	XX

Danksagung	XXIII
Ehrenwörtliche Erklärung	XXIV

Abkürzungsverzeichnis

A	Alter
Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
ADP	Adenosindiphosphat
ADP/O	Verhältnis von produziertem ATP pro verbrauchtem Sauerstoffatom
Aqua dest.	<i>Aqua destillata</i>
AU	<i>Arbitrary unit</i>
AUC	Fläche unter der Kurve
ATP	Adenosintriphosphat
BSA	Rinderserumalbumin
Car	Carnitin
CP1/2	Chappel-Perry-Puffer 1/2
DHQ	Duroquinol
DNP	Dinitrophenol
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazin
DTNB	5,5'-dithiobis-(2nitrobenzoesäure)
FADH ₂	Flavin-Adenin-Dinukleotid reduziert
FS	Verkürzungsfraction
Gastrocnemius	<i>Musculus gastrocnemius</i>
GFG	Gonadenfettgewicht
Glu	Glutamat
GPx	Glutathionperoxidase
GTT	Glukosetoleranztest
HCl	Salzsäure
HCR	Ratten mit hoher körperlicher Leistungsfähigkeit
HEPES	2-ethansulfonsäure
HG	Herzgewicht
HRP	Meerrettichperoxidase
HNE	4-Hydroxynonenal
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
I	Interaktion
IFM	interfibrilläre Mitochondrien
ITT	Insulintoleranztest
IVsd	diastolische Septumdicke
KI/III	Komplex I/III
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
KCl	Kaliumchlorid
LCR	Ratten mit niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit
LeG	Lebergewicht
LuG	Lungengewicht
LVIDd	enddiastolischer Innendurchmesser
LVPWD	diastolische Hinterwanddicke
Mal	Malat

MgCl ₂	Magnesiumchlorid
Mitopoplulation	Mitochondrienpopulation
Mitos	Mitochondrien
MOPS	3-(N-Morpholino)propansulfonsäure
MPTP	mitochondriale Permeabilitätspore
n	Anzahl
NaCl	Kochsalz
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat reduziert
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat oxidiert
ns	nicht signifikant
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
P	Phänotyp
Pc	Palmitoylcarnitin
PCoA	Palmitoylcoenzym A
PGC-1 α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1α</i>
Pyr	Pyruvat
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
Rot	Rotenon
SEM	Standardfehler
SOD	Superoxiddismutase
Soleus	<i>Musculus Soleus</i>
SS	Seitenstreulicht
SSM	subsarkolemmale Mitochondrien
Succ	Succinat
TL	Tibiallänge
TMPD	Tetramethylphenylendiamin
U	Unit
VG	Ventrikelgewicht
VO _{2max}	Maximale Sauerstoffaufnahme
vs.	versus
VS	Vorwärtsstreulicht

Zusammenfassung

Die Lebenserwartung der Menschen steigt stetig an. Altern mündet in einer Abnahme der muskulären Fähigkeiten und ist zudem geschlechtsspezifisch. Auch das Erkrankungsrisiko ist im Alter deutlich erhöht. Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen dabei die häufigste Todesursache dar. Mitochondrien wird eine wesentliche Rolle beim Altern und bei der Vermittlung von Langlebigkeit zugesprochen. Eine mitochondriale Dysfunktion wird mit erhöhtem oxidativen Stress assoziiert. Andererseits korreliert die mitochondriale Funktion positiv mit der körperlichen Leistungsfähigkeit. Die aerobe Laufkapazität ist ein zuverlässiger Prädiktor für die Morbidität und Mortalität nicht nur bei gesunden Menschen, sondern auch bei Patienten. Sie besteht aus zwei Komponenten, der intrinsischen, genetisch bedingten und der extrinsischen, die abhängig vom Trainingsstatus und den Umweltbedingungen ist. Eine hohe körperliche Leistungsfähigkeit kann altersassoziierte Erkrankungen vermindern und die Lebensspanne erhöhen, doch gerade die genetische Ausstattung hat einen großen Anteil an der Laufkapazität. Beim Menschen ist die Unterscheidung zwischen intrinsischer und extrinsischer Komponente nicht eindeutig möglich. Durch selektive Züchtung wurden Ratten mit genetisch bedingter hoher (HCR) oder niedriger (LCR) maximaler Laufkapazität generiert. LCR zeigen ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und Anzeichen des metabolischen Syndroms. Wie auch beim Menschen geht in diesem Modell die erniedrigte körperliche Leistungsfähigkeit mit einer verkürzten Lebensspanne (ca. 30 %) einher. Das Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss von niedriger und hoher intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit auf den Mitochondrienstoffwechsel und oxidativen Stress im Alter zu untersuchen.

HCR und LCR beider Geschlechter wurden als adulte (15 Wochen) und alte Tiere (100 Wochen) untersucht. Zusätzlich wurden seneszente HCR (130 Wochen) betrachtet. Es erfolgte eine Echokardiographie des Herzens. Mitochondrien wurden aus dem Herzen und der Skelettmuskulatur durch differentielle Zentrifugation isoliert und funktionell charakterisiert. Die mitochondriale ROS-Produktion, antioxidative Kapazität sowie oxidative Schäden wurden im Gewebe untersucht.

Adulte LCR zeigten im Vergleich zu HCR eine geringere Laufkapazität. Parallel dazu war im Skelettmuskel bei adulten LCR sowohl die mitochondriale Menge als auch die respiratorische Kapazität niedriger als bei HCR. Die Funktion des Herzens und der kardialen Mitochondrien hingegen war zwischen HCR und LCR vergleichbar. Die mitochondriale ROS-Produktion zeigte kein einheitliches Bild. Die antioxidative Kapazität sowie die oxidativen Schäden

waren zwischen HCR und LCR vergleichbar. **Im Alter** sank bei HCR die Laufkapazität signifikant, blieb jedoch höher als bei LCR. Die Mitochondrienmenge im Skelettmuskel nahm bei HCR sowie bei männlichen LCR ab. Alte, männliche LCR zeigten dabei eine geringere Mitochondrienmenge als alte HCR. Die respiratorische Kapazität der muskulären Mitochondrien nahm im Alter sowohl bei HCR als auch bei LCR unabhängig vom Geschlecht ab. Dieser Effekt war bei alten LCR deutlicher und mündete in einer geringeren respiratorischen Kapazität im Vergleich zu HCR. Somit waren die Skelettmuskelmitochondrien im Alter bei niedriger intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit stärker beeinträchtigt. Das Herz zeigte eine altersbedingte Dilatation und Funktionseinschränkungen, die zwischen HCR und LCR vergleichbar waren. Auch die Mitochondrienmenge des Herzens sank im Alter bei HCR und LCR auf eine vergleichbare Menge. Bei Weibchen war im Alter die Abnahme der respiratorischen Kapazität der kardialen Mitochondrien mit der Abnahme der kontraktilen Funktion des Herzens assoziiert. Unerwartet sank die mitochondriale ROS-Produktion im Alter sowohl bei HCR als auch bei LCR im Herz- und Skelettmuskel. Die erhöhte Katalaseaktivität im Herzen und Skelettmuskel der HCR und LCR spricht für eine höhere antioxidative Kapazität im Alter. Parallel dazu nahmen oxidative Protein- und Lipidschäden bei HCR und LCR zu. **In der Seneszenz** fiel die Laufkapazität der HCR weiter ab. Bei Männchen nahm die Mitochondrienmenge im Skelettmuskel bei seneszenten HCR auf ein vergleichbares Niveau mit alten LCR ab. Bei Weibchen hingegen sank bei seneszenten HCR die respiratorische Kapazität und war somit ebenfalls mit alten LCR vergleichbar. Diese Befunde deuten auf eine frühere und zudem geschlechtsspezifische Beeinträchtigung der muskulären Mitochondrien bei LCR im Vergleich zu HCR hin. Die kontraktile und mitochondriale Funktion des Herzens blieb bei seneszenten HCR im Vergleich zu alten HCR erhalten. Die mitochondriale ROS-Produktion stieg zudem bei seneszenten HCR im Herzen und Skelettmuskel tendenziell an.

Die verkürzte Lebensspanne bei Ratten mit intrinsisch niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit ist mit einer früheren und geschlechtsspezifischen Dysfunktion muskulärer Mitochondrien assoziiert. Das Herz, aber auch die mitochondriale ROS-Produktion sowie oxidativer Stress scheinen bei intrinsisch hoher oder niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit keine Rolle für die unterschiedliche Lebensspanne zu spielen.

1 Einleitung

1.1 Altern

Weltweit nimmt die Anzahl alter Menschen zu. Epidemiologische Studien zeigen, dass derzeit ungefähr 800 Millionen Menschen über 60 Jahre alt sind und somit 11 % der Gesamtpopulation ausmachen. Bis 2050 soll der Anteil auf bis zu 22 % steigen (Newgard und Sharpless 2013). Ein Grund für diese Zunahme ist die kontinuierlich ansteigende Lebenserwartung (Lutz et al. 2008). Altern ist ein biologischer Prozess, der über die Zeit in einer Abnahme der Funktionsfähigkeit des Organismus (Gewebe- und Organfunktion) und zudem in einem erhöhten Risiko für Morbidität und Mortalität resultiert (Zhang et al. 2017). Vor allem chronische Erkrankungen wie Krebs, Neurodegeneration und kardiovaskuläre Erkrankungen treten einzeln oder in Kombination und mit zunehmender Prävalenz im Alter auf (Niccoli und Partridge 2012). Kardiovaskuläre Erkrankungen sind dabei die Haupttodesursache (Mc Namara et al. 2019). Das Herz und das Gefäßsystem erfahren im Alter zahlreiche strukturelle und funktionelle Veränderungen. Diese umfassen unter anderem eine kardiale Hypertrophie oder eine Pump- und Füllungsdysfunktion (North und Sinclair 2012). Durch das (vorzeitige) Altern des Herzens ist die Entwicklung einer Herzinsuffizienz wahrscheinlich. Weiterhin verändert sich die Leber im Alter sowohl strukturell als auch funktionell. Das Risiko für verschiedene Lebererkrankungen – wie einer Fettleber – oder für eine notwendige Lebertransplantation steigen, was wiederum die Mortalitätsrate erhöht (Kim et al. 2015). Aber auch die Skelettmuskulatur ist vom Altern betroffen. Sie ist das größte Organ des Körpers (Preedy et al. 2001). Es scheint unvermeidbar, dass eine Sarkopenie, das heißt eine Dysfunktion der Skelettmuskulatur, auftritt (Doria et al. 2012). Sarkopenie ist die offensichtlichste Auswirkung des Alterns und bringt gleichzeitig die größten Einschränkungen mit sich. Zum einen lässt bei Sarkopenie die Muskelkraft nach (Wilkinson et al. 2018). Ab dem Alter von 60 Jahren sinkt die Muskelkraft jährlich um 3 % (von Haehling et al. 2010). Zum anderen nimmt die Muskelmasse ab. Dies wird als Atrophie bezeichnet und hängt mit einer höheren Rate des Proteinabbaus als Proteinaufbaus zusammen. Die Muskelmasse nimmt sogar schon ab dem 50. Lebensjahr um 1-2 % pro Jahr ab (Liu und Latham 2009). Insgesamt stellt die Sarkopenie ein starkes Gesundheitsrisiko dar. Dabei ist ein Zusammenhang mit einer eingeschränkten körperlichen Leistungsfähigkeit, Gebrechlichkeit, einer erhöhten Fallrate sowie einem Verlust der funktionellen Unabhängigkeit bei alten Menschen beschrieben (Roubenoff 2000).

Altern ist individuell und wird in verschiedene Profile eingeteilt, normales Altern, pathologisches Altern oder erfolgreiches Altern. Das erfolgreiche Altern wird durch verschiedene Konzepte definiert und hängt weitestgehend mit einer Aufrechterhaltung der körperlichen und geistigen Leistungsfähigkeit zusammen, was nur etwa 1,6-21 % der Bevölkerung betrifft (Gremeaux et al. 2012). Das Geschlecht spielt eine wesentliche Rolle beim Altern (Popkov et al. 2015) oder auch bei der Antwort auf altersverlangsamende Maßnahmen (Garratt 2019). Frauen leben auf der ganzen Welt länger als Männer. Ebenfalls treten viele Erkrankungen bei Frauen mit einer Zeitverzögerung von 5-10 Jahren auf (Popkov et al. 2015). In der Framingham Studie wurde gezeigt, dass Frauen insgesamt häufiger als Männer an Herzinsuffizienz erkranken (Ho et al. 1993), dabei jedoch höhere Überlebensraten aufweisen (Regitz-Zagrosek und Kararigas 2017). Generell besteht das Paradoxon, dass Frauen trotz ihrer im Vergleich zu Männern längeren Lebensspanne besonders im fortgeschrittenen Lebensalter an einer stärkeren Morbidität und einem erhöhten Erkrankungsrisiko leiden (Fischer und Riddle 2018). Funktionelle Einschränkungen, die mit einer Sarkopenie im Alter einhergehen sind wiederum bei Männern stärker als bei Frauen ausgeprägt (Neder et al. 1999). Interessanterweise scheinen für die Aufrechterhaltung der Muskelfunktion die Sexualhormone nur bei Männern ausschlaggebend zu sein (Doria et al. 2012). Zahlreiche Mechanismen des Alterns unterscheiden sich letztlich zwischen den Geschlechtern. Es wurde beschrieben, dass bei Männern die Inzidenz für Schäden an der Desoxyribonukleinsäure (DNA) höher ist (Fischer und Riddle 2018) und auch die Mitochondrienfunktion sich im Alter zwischen Männern und Frauen unterscheidet (Tower 2015). Um das Altern selbst zu erklären, wurden bereits diverse Theorien vorgeschlagen und es gibt noch keine eindeutige Klärung. Eine der am meisten akzeptierten Theorien beschreibt die Beteiligung defekter Mitochondrien und oxidativem Stress.

1.2 Mitochondrien

Schon in den 50er Jahren wurde von Denham Harman die „Theorie der freien Radikale“ vorgeschlagen, die später zur „Mitochondrialen Theorie des Alterns“ erweitert wurde (Harman 1956, Harman 1972). Nach dieser Theorie hängt Altern mit einer zunehmenden Akkumulation oxidativer Schäden zusammen. Oxidative Schäden werden durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) verursacht und beeinträchtigen die DNA bzw. Makromoleküle wie Proteine, Lipide und Glukose (Dizdaroglu 1992, Salisbury und Bronas 2015). Mitochondrien stellen die Hauptquellen der ROS dar. Dabei ist die mitochondriale DNA selbst besonders anfällig für oxidative Schäden (Cui et al. 2012). Dies ist problematisch, da die

Reparaturmechanismen der mitochondrialen DNA im Vergleich zur Zellkern-DNA nur sehr begrenzt sind (LeDoux et al. 1992) und die Schäden akkumulieren. Schäden der mitochondrialen DNA wiederum gefährden die Zusammensetzung der Elektronentransportkette und deren einzelnen Bestandteile (Short et al. 2005). Ungefähr 2-3 % des aufgenommenen Sauerstoffs wird durch die Aufnahme einzelner Elektronen in Mitochondrien unvollständig reduziert. In einer aktuellen Studie wird dieser Wert allerdings auf nur 0,2 % geschätzt (Miwa und Brand 2005). Durch die unvollständige Reduktion des Sauerstoffs entstehen verschiedene Arten von ROS, wie Wasserstoffperoxide (H_2O_2), Superoxid-Anion-Radikale oder Hydroxyl-Radikale (Johnson et al. 1999). An der ROS-Produktion ist hauptsächlich die Atmungskette der Mitochondrien beteiligt. Während der oxidativen Phosphorylierung können Elektronen an Komplex I, II oder III austreten und zu einer Superoxidbildung des Sauerstoffs führen. In einer schnellen Reaktion reagiert das instabile Superoxid zum stabileren H_2O_2 (Quinlan et al. 2012) und wird in Hydroxylradikale umgewandelt. Die häufigsten Schäden von ROS an Proteinen sind Carbonyle, die durch die Fenton-Reaktion der Proteinseitenketten oder die Bindung von Lipidoxidsprodukten durch die Michael-Additionsreaktion entstehen. Zu den Lipidoxidsprodukten wiederum zählen 4-Hydroxynonenale (HNE), die aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren entstehen (Liguori et al. 2018). Unter physiologischen Bedingungen verhindert das antioxidative System, dass oxidative Schäden durch ROS entstehen. Die primären antioxidativen Enzyme umfassen die Superoxiddismutase (SOD), die Katalase und die Glutathionperoxidase (GPx). Die SOD bildet aus Sauerstoff H_2O_2 , welches durch die Katalase zu Wasser und Sauerstoff gespalten wird. Peroxide und Hydroxylradikale hingegen werden durch die GPx in nichttoxische Produkte umgewandelt (Birben et al. 2012).

Übersteigt die ROS-Produktion die antioxidative Kapazität kommt es zu oxidativem Stress. Eine erhöhte ROS-Produktion entsteht im Alter durch die Ansammlung defekter Mitochondrien (Petrosillo et al. 2009). ROS schränken die Fähigkeit der Mitochondrien ein, Adenosintriphosphat (ATP) zu generieren und vermindern deren vielfältige metabolische Funktionen wie den Citratzyklus, die Fettsäureoxidation oder den Aminosäuremetabolismus. Oxidative Schäden der Mitochondrien oder auch eine erhöhte ROS-Produktion selbst können darin resultieren, dass die Mitochondrien durch die Öffnung der mitochondrialen Permeabilitätspore (MPTP) Cytochrom C aus dem Intermembranraum in die Zelle freigeben und die Apoptose der Zelle einleiten (Doria et al. 2012, Kurian et al. 2016). Letztlich schädigen mehr ROS wiederum mehr Mitochondrien, was in einem *Circulus vitiosus* endet und das Altern fördert (Birben et al. 2012). Allerdings gibt es auch gegenteilige Meinungen

zur Wirkung von ROS. Eine Hemmung der Atmungskette führte im *Caenorhabditis elegans* Modell zu einer leichten Erhöhung der ROS-Produktion und erhöhte die Lebensspanne (Lee et al. 2010). Bei niedrigen Konzentrationen als Reaktion auf milde Stressoren können ROS demnach als Signalmoleküle fungieren und die Zellen vor oxidativen Schäden in Form einer physiologischen Adaptation schützen. Dies wird als Mitohormesis bezeichnet (Ristow 2014). Bis heute wird kontrovers diskutiert, ob und inwieweit ROS und Mitochondrien tatsächlich Vermittler der Langlebigkeit sind (Stuart et al. 2014).

In Muskelzellen existieren verschiedene Mitochondrienpopulationen, die interfibrillären (IFM) und subsarkolemmalen (SSM) Mitochondrien (Palmer et al. 1977). Sie unterscheiden sich nicht nur in ihren morphologischen und biochemischen Eigenschaften, sondern auch in der örtlichen Lage. IFM sind zwischen den Muskelfibrillen und SSM unter dem Sarkolemm lokalisiert. Die Respirationsraten sind bei SSM niedriger (Holmuhamedov et al. 2012) und es wird vermutet, dass SSM vorwiegend ATP für basale zelluläre Prozesse bereitstellen. IFM hingegen liefern hauptsächlich ATP für die Kontraktion der Muskulatur (Hollander et al. 2014). Es ist daher naheliegend, dass die mitochondriale Funktion die kontraktile Funktion beeinflussen kann (Schwarzer et al. 2013). Mitochondrien sind nicht nur Produzenten von ATP und ROS, sondern auch Regulatoren der Immunantwort, der intrazellulären Signalwege oder Modulatoren der Stammzellaktivität. Eine Dysfunktion könnte somit über verschiedene Wege das Altern triggern (Sun et al. 2016). In Modellorganismen wie auch in Humanstudien wurde bereits eine mitochondriale Dysfunktion im Alter gezeigt (Lanza und Nair 2010, Tower 2015, Sun et al. 2016). Davon betroffen sind verschiedene Organsysteme. Vornehmlich zählen dazu das Herz und die Skelettmuskulatur, da beide einen hohen oxidativen Energiebedarf und daher eine große Anzahl an Mitochondrien aufweisen (Boengler et al. 2017). Im Herzen verschiebt sich im Alter die Substratpräferenz von Fettsäuren zu Glukose. Zudem nimmt die ATP-Produktion, die Aktivität der Atmungskettenkomplexe sowie die mitochondriale Biogenese ab (Boengler et al. 2017, Tocchi et al. 2015). Es wird vermutet, dass im Alter die Funktion der IFM des Herzens stärker als die der SSM beeinträchtigt wird (Suh et al. 2003). Untersuchungen zu Mitochondrien der Skelettmuskulatur finden eine Abnahme der mitochondrialen Menge und/oder der mitochondrialen respiratorischen Kapazität sowie eine verminderte Regeneration des Phosphocreatin (Sun et al. 2016). Defekte Mitochondrien sollen auch Vermittler der im Alter sehr häufig auftretenden Sarkopenie sein (Marzetti et al. 2013, Alway et al. 2017). Der Mangel an ATP limitiert dabei die Proteinsynthese und geht mit einer Abnahme des Muskelproteinanabolismus im Alter einher (Short et al. 2004). Bei einem Übermaß defekter Mitochondrien sterben die Muskelzellen

durch apoptotische Signale (Schiaffino et al. 2013). Die fettfreie Körpermasse und somit die Skelettmuskulatur ist der metabolisch aktivste Teil des Körpers. Kommt es im Alter zu einem Verlust der Skelettmuskulatur, gibt es einen Zusammenhang mit dem Auftreten einer Insulinresistenz und mit einer Abnahme der körperlichen Leistungsfähigkeit (Arias et al. 2001).

1.3 Körperliche Leistungsfähigkeit

Der beste Marker für die Beurteilung der körperlichen Leistungsfähigkeit ist die maximale Sauerstoffaufnahme (VO_{2max}) während körperlicher Belastung (Fletcher et al. 2013). Die körperliche Leistungsfähigkeit und der VO_{2max} sind zuverlässige Prädiktoren für die Sterblichkeit bei gesunden Menschen, aber auch bei kardiovaskulären Erkrankungen (Myers et al. 2002). In allen Altersstufen ist die körperliche Leistungsfähigkeit – also das biologische Alter – ein stärkerer Prädiktor für das Überleben als das chronologische Alter (Blaha et al. 2016). Altern resultiert damit zwangsläufig in einer Abnahme der körperlichen Leistungsfähigkeit. Das Vorhandensein von zusätzlichen, altersassoziierten Erkrankungen verstärkt diesen Prozess (Akerman et al. 2014). Die Mechanismen für die Abnahme der körperlichen Leistungsfähigkeit im Alter sind multifaktoriell. Neben der Ernährung, dem Hormonstatus und einem verminderten Herzzeitvolumen, ist vor allem die Skelettmuskulatur entscheidend (Woo et al. 2006). Es wird eine Abnahme der Muskelkapillarisation um 25 % sowie eine Einschränkung mitochondrialer Enzymaktivitäten im Alter beschrieben (Coggan et al. 1992). Weiterhin ist die oxidative Kapazität der Skelettmuskulatur reduziert und eine verstärkte Laktatakkumulation zu beobachten (Chisari et al. 2002). Neben dem Alter ist auch das weibliche Geschlecht mit einer niedrigeren körperlichen Leistungsfähigkeit assoziiert. Es wurde gezeigt, dass Frauen zwar eine niedrigere körperliche Leistungsfähigkeit als Männer aufweisen. Jedoch war bei Frauen die Effizienz in Watt pro VO_2 nicht geringer (Woo et al. 2006). Die Unterschiede sind durch die kleinere Herzgröße der Frauen, den höheren Körperfettanteil und den geringeren Hämoglobingehalt als periphere Sauerstoffquelle mitbegründet.

Unabhängig vom Alter ist eine geringe körperliche Leistungsfähigkeit mit einer höheren Morbidität sowie einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert (Kokkinos 2012). Körperliche Inaktivität führte in Ratten trotz einer freiwilligen, geringeren Nahrungsaufnahme zu einer Reduktion der Lebensspanne um 11 % (Mlekusch et al. 1996). Auch in Humanstudien wurde gezeigt, dass bei körperlicher Inaktivität die Lebenserwartung

sinkt (Lee et al. 2012). Mitochondrien sind ein bedeutender Regulator der körperlichen Leistungsfähigkeit (Huertas et al. 2019, Votion et al. 2012). Eine niedrige körperliche Leistungsfähigkeit geht mit einer eingeschränkten mitochondrialen Funktion einher (Huertas et al. 2019). Training kann die körperliche Leistungsfähigkeit steigern und zeigt alternsverlangsamende Effekte. Ratten altern durch Training nicht nur langsamer (Viidik et al. 1996), sondern weisen auch eine geringere, altersbedingte Änderung der Genexpression im Herzen auf (Bronikowski et al. 2003). Dabei werden die mitochondriale Respiration (Hafstad et al. 2011) sowie die antioxidative Kapazität (Judge et al. 2005) erhöht. Auch der Mensch profitiert von Training, indem das Altern verlangsamt wird (Gremeaux et al. 2012) und die Morbidität und Mortalität – vor allem auch bei kardiovaskulären Patienten (Adams und Linke 2019) – sinken. Dies hängt mit dem Erhalt der körperlichen Leistungsfähigkeit sowie der Kraft der Skelettmuskulatur zusammen (Papa et al. 2017, Egan und Zierath 2013). Die Vermittlung des Trainingseffekts läuft unter anderem über die Stimulation der mitochondrialen Biogenese, die wiederum die Entwicklung einer altersassoziierten Sarkopenie verhindern kann (Wenz et al. 2009). Ob allerdings Training wirklich die maximale (Gremeaux et al. 2012) oder nur die mittlere (Holloszy et al. 1998) Lebensspanne verlängert, wird diskutiert. Auch die Dosis scheint einen Einfluss zu zeigen. Zu schweres oder anhaltendes Training kann sogar Gegenteiliges bewirken, also die Mitochondrien schädigen und oxidativen Stress hervorrufen (Ostojic 2016).

Die körperliche Leistungsfähigkeit setzt sich aus zwei Komponenten, der intrinsischen sowie der extrinsischen zusammen. Die intrinsische Komponente wird vererbt und macht 50-70 % der gesamten körperlichen Leistungsfähigkeit aus (Tweedie et al. 2011, Bouchard et al. 1986). Umweltbedingungen (wie z.B. Training) beeinflussen hingegen die extrinsische Komponente. Es wurde gezeigt, dass Training den VO_{2max} um 15-93 % erhöhen (Onkelinx et al. 2011) und folglich die körperliche Leistungsfähigkeit maximal verdoppeln kann. Da Training die basalen physiologischen Funktionen und auch das Überleben positiv beeinflusst, wird vermutet, dass diese Effekte auch unter genetischer Kontrolle stehen (Arking 2019). Dafür spricht, dass bei monozygoten Zwillingen die Lebenserwartung bei unterschiedlichem Training vergleichbar war. Bei dizygoten Zwillingen hingegen zeigte der weniger aktive Zwilling ein höheres Mortalitätsrisiko (Kujala et al. 2002). Eine Unterscheidung zwischen der intrinsischen und extrinsischen Komponente der körperlichen Leistungsfähigkeit ist grundsätzlich im Menschen und selbst bei Zwillingen aufgrund der vielfältigen Umwelteinflüsse nur schwer möglich. Koch und Britton entwickelten das Modell der Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit. Sie

gingen damit der Hypothese nach, dass eine Selektion für erhöhte Ausdauerkapazität zu Langlebigkeit führt (Koch und Britton 2001). Das Modell bietet aber vor allem die Möglichkeit, die Einflüsse einer intrinsisch bedingten Ausdauerkapazität unabhängig von extrinsischen Einflüssen zu bestimmen.

1.4 Modell der Ratten mit hoher und niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit

Zur Beurteilung der körperlichen Leistungsfähigkeit wurde im von Koch und Britton geschaffenen Modell die Laufkapazität von Ratten aus einem heterogenen Wildtypstamm (N:NIH) individuell auf einem Laufband bestimmt und dabei die Dauer, Strecke und maximale Geschwindigkeit gemessen. Es erfolgte eine selektive Züchtung, indem die Ratten mit der höchsten und mit der niedrigsten getesteten körperlichen Leistungsfähigkeit miteinander verpaart wurden. Diese Selektion erfolgte über mehrere Generationen hinweg und es entwickelten sich die Linien der HCR und LCR (Koch und Britton 2001, Koch et al. 2011). Da die Inzuchtrate der HCR und LCR unter 1 % liegt, sind sie dem Menschen in Bezug auf die genetische Variation sehr ähnlich (Ren et al. 2013). HCR sind sowohl durch eine höhere körperliche Leistungsfähigkeit als auch durch einen höheren VO_{2max} in beiden Geschlechtern charakterisiert (Gonzalez et al. 2006, Torma et al. 2014). Diese Unterschiede wurden vererbt. Welche Gene dafür ausschlaggebend sind, ist allerdings unklar. Es wird vermutet, dass durch den Selektionsdruck über mehrere Generationen hinweg funktionelle Allele an verschiedenen interagierenden Orten, die die intrinsische Laufkapazität bestimmen, erweitert wurden oder sich unterschiedlich ausprägten (Tweedie et al. 2011).

Tatsächlich unterscheiden sich HCR und LCR in ihrer Lebensspanne. LCR weisen eine um 45 % reduzierte maximale Lebensspanne auf. Das Medianalter der LCR liegt bei 24 Monaten und das der HCR bei 34,7 Monaten (Koch et al. 2011). Eine Selektion für niedrige körperliche Leistungsfähigkeit resultiert demnach in der Verminderung der mittleren und maximalen Lebensspanne. Männchen und Weibchen zeigen allerdings eine vergleichbare maximale Lebensspanne (Koch et al. 2012). Eine hohe körperliche Leistungsfähigkeit ist gleichzeitig mit einem höheren Überleben sowie mit einer besseren Gesundheit assoziiert und wird von Koch und Britton somit als ein Biomarker für Altern vorgeschlagen (Koch et al. 2011). Generell zeigen LCR – im Gegensatz zu HCR – einen erhöhten viszeralen Fettgehalt, Bluthochdruck, Insulinresistenz und eine Funktionseinschränkung des Endothels (Wisløff et al. 2005, Noland et al. 2007). Dieser metabolische Phänotyp geht ebenfalls mit einem erhöhten (kardiovaskulärem) Erkrankungsrisiko und einer Skelettmuskeldysfunktion einher.

An dem unterschiedlichen Erkrankungsrisiko soll vornehmlich eine Dysfunktion oder reduzierte Menge der Mitochondrien beteiligt sein (Wisløff et al. 2005). LCR zeigen im Skelettmuskel (Walsh et al. 2006) und im Herzen (Souza et al. 2018) eine niedrigere respiratorische Kapazität als HCR. Neben der ausgeprägten Einschränkung der Mitochondrienfunktion wurde bei LCR auch eine verminderte Expression von Proteinen gefunden, die für die Funktion und Biogenese der Mitochondrien eine Rolle spielen (Walsh et al. 2006). Weiterhin entwickelte sich die Substratpräferenz bei LCR hin zu mehr Glukose anstatt Fettsäuren. Im Vergleich zu HCR weisen sie eine geringere Muskeffizienz auf und akkumulieren unvollständig oxidierte Intermediate des Stoffwechsels, die die körperliche Leistungsfähigkeit limitieren (Overmyer et al. 2015). Grundsätzlich ist bekannt, dass sich im Alter der Energiemetabolismus des Herzens und der Skelettmuskulatur verändert. Wodurch die Unterschiede in der Lebensspanne der HCR und LCR bedingt sind bzw. welche altersbedingten mitochondrialen Veränderungen damit assoziiert sind, ist noch unklar.

Ziel der Arbeit

Es war das Ziel dieser Arbeit, den Einfluss von niedriger und hoher intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit auf die Mitochondrienfunktion und oxidativen Stress im Alter zu untersuchen.

Folgende Hypothesen sollen getestet werden:

- niedrige körperliche Leistungsfähigkeit (mit einer verkürzten Lebensspanne) ist im Alter mit einer früheren und hohe körperliche Leistungsfähigkeit mit einer späteren Einschränkung des Stoffwechsels des Herz- und Skelettmuskels assoziiert
 - die Einschränkungen umfassen mitochondriale Dysfunktion, erhöhte mitochondriale ROS-Produktion sowie erhöhten oxidativen Stress
- zwischen Männchen und Weibchen sind die Einschränkungen des Metabolismus im Alter unterschiedlich ausgeprägt
- kardiale, mitochondriale Dysfunktion geht mit kardialer Funktionseinschränkung einher und ist bei niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit im Alter stärker ausgeprägt

2 Methodik

2.1 Tiermodell

Für die Untersuchungen wurden HCR und LCR beiden Geschlechts aus den Generationen 33, 36 und 39 verwendet. Das Rattenmodell wurde von den ursprünglichen Entwicklern Steven Britton und Lauren Koch aus der *University of Michigan* bezogen (Koch und Britton 2001). Die Haltung und Weiterzucht erfolgte im Forschungszentrum Jena-Lobeda. Futter und Wasser standen *ad libitum* zur Verfügung und der Licht/Dunkel-Zyklus betrug 12 h/12 h. Alle durchgeführten Experimente wurden durch das Thüringer Landesamt für Verbraucherschutz genehmigt.

2.2 Studiendesign

Für die Untersuchungen der HCR und LCR wurden verschiedene Zeitpunkte gewählt. Adulte Tiere waren 15 Wochen und alte Tiere 100 Wochen alt. Mit 100 Wochen standen LCR kurz vor ihrem Lebensende. Zusätzlich wurden 130 Wochen alte HCR, die ebenfalls kurz vor ihrem Lebensende standen, untersucht. Die Bestimmung der körperlichen Leistungsfähigkeit, der Insulin- und Glukosetoleranz sowie der kardialen Funktion wurden bei den Tieren an einzelnen Tagen kurz vor dem Erreichen der gewählten Untersuchungszeitpunkte und der folgenden Organentnahme durchgeführt. Dabei wurde bis zur Organentnahme ein zeitlicher Abstand von mindestens 24 h eingehalten. Alle weiteren Messungen wurden an frischem oder bei -80 °C gelagerten Gewebe durchgeführt. Eine Übersicht der durchgeführten Untersuchungen mit den jeweiligen Zeitpunkten befindet sich in Tabelle 11 (Anhang).

2.3 Körperliche Leistungsfähigkeit

Die körperliche Leistungsfähigkeit der HCR und LCR wurde anhand der aeroben Laufkapazität bei wiederholten Lauftests auf dem Laufband nach dem Protokoll von Hoydal et al. bestimmt und ausgewertet (Hoydal et al. 2007). Es erfolgte an drei aufeinanderfolgenden Tagen eine 15-minütige Eingewöhnungsphase, bei der die Tiere mit dem Laufband vertraut gemacht wurden und bei einer Geschwindigkeit von 10 m/min liefen. Die Neigung des Laufbands betrug 25 Grad. Der Lauftest begann mit einer 15-minütigen Einlaufphase bei einer Geschwindigkeit von 13 m/min für HCR und bei 4 m/min für LCR. Anschließend erfolgte eine Steigerung der Geschwindigkeit um 1,8 m/min, bis der

Erschöpfungszustand bzw. definierte Abbruchkriterien erreicht wurden. Diese umfassen ein mehrmaliges Pausieren auf der Stimulationseinheit (HCR: $> 3 * 5$ s; LCR: $> 6 * 5$ s) oder eine länger andauernde Laufunterbrechung auf der Stimulationseinheit (HCR: > 15 s; LCR: > 30 s). Da die letzten Stufen von den Tieren nur unter anaeroben Bedingungen gelaufen werden können, wurden jeweils die vier letzten erreichten Stufen des Lauftests abgezogen. Jedes Tier absolvierte den Ausdauertest dreimal mit jeweils einem Tag Pause zwischen den einzelnen Tests. Die Ergebnisse wurden daraufhin gemittelt.

2.4 Glukose- und Insulintoleranztest

Die Ermittlung der Nüchternblutglukose sowie der Glukose- und Insulintoleranz wurde nach einer Fastenzeit von 6 h nach einer abgewandelten Methode von Andrikopoulos et al. durchgeführt (Andrikopoulos et al. 2008). Vor der intraperitonealen Verabreichung der Glukose (2 g/kg) oder des Insulins (1 Insulineinheit/kg) erfolgte eine Isofluran-Narkose (5 %) der Tiere. Anschließend wurde ein Tropfen Blut aus der Fußkapillare während einer leichten Isoflurannarkose (1,5 %) entnommen. Der Blutropfen wurde auf einen Blutzuckerteststreifen überführt und mit einem Blutzuckermessgerät (FreeStyle) ausgelesen. Die Messung des Blutglukosespiegels erfolgte nach 0, 15, 30, 60, 120 sowie 180 min. Der Verlauf wurde grafisch dargestellt.

2.5 Echokardiografie

Zu Beginn wurden die Tiere gewogen und durch eine leichte Inhalationsnarkose mit Isofluran (Einleitung 5 %; weiterer Verlauf 2 %) ruhig gestellt. Anschließend wurden die Tiere am Brustkorb im Herzbereich rasiert und in Rückenlage auf einer Wärmeplatte mit EKG-Ableitern fixiert. Für die Echokardiographie wurde das Vevo770 (VisualSonics) mit einem 17,5 Mhz RMV716 Schallkopf (VisualSonics) verwendet. Die Messungen wurden von Frau Dr. Andrea Schrepper und Frau Dr. Christina Schenkl durchgeführt. Den Tieren wurde Medetomidin (Dormitor) verabreicht, um die Herzfrequenz auf ungefähr 300 Schläge pro Minute zu senken und die Bestimmung der diastolischen Funktion zu ermöglichen. Auf Höhe der Papillarmuskeln erfolgten im Bildmodus Längs- und Querschnittaufnahmen des linken Ventrikels. Aufnahmen im M-Mode des linken Ventrikels wurden für die Bestimmung der diastolischen und systolischen Wanddicken sowie des jeweiligen Ventrikellinnendurchmessers verwendet (Zaha et al. 2003, Sahn et al. 1978, Buck et al. 2009). Die Ventrikel elastizität und die Flussraten der diastolischen Funktion wurden anhand aufgenommener Sequenzen der

Herzkontraktion durch einen Gewebedoppler und gepulsten Doppler (PW-Doppler) gemessen (Schenkl 2018). Die Herzfunktion wurde durch die Herzfrequenz und weitere Parameter charakterisiert (Tabelle 1).

Tabelle 1 – Echokardiografische Messparameter

Parameter	Abkürzung	Einheit	Modus/Berechnung
Vorderwanddicke			
Systole	LVAWs	mm	M-Mode
Diastole	LVAWd	mm	M-Mode
Hinterwanddicke			
Systole	LVPWs	mm	M-Mode
Diastole	LVPWd	mm	M-Mode
Septumdicke			
Systole	IVSs	mm	M-Mode
Diastole	IVSd	mm	M-Mode
Innendurchmesser			
endsystolisch	LVIDs	mm	M-Mode
enddiastolisch	LVIDd	mm	M-Mode
Ventrikelvolumen			
Systole	LVVs	μl	$=7/(2,4+\text{LVIDs}) \cdot \text{LVIDs}^3$
Diastole	LVVd	μl	$=7/(2,4+\text{LVIDd}) \cdot \text{LVIDd}^3$
Ventrikelmasse	LVM	mg	$=1,04 \cdot (\text{LVAWd} + \text{LVPWd} + \text{LVIDd}^3 - \text{LVIDd}^3)$
Massenindex	LVMI	g/kg	$=\text{LVM}/\text{Körpergewicht}$
passiver Einstrom	E	mm/s	PW-Doppler
aktiver Einstrom	A	mm/s	PW-Doppler
Dezelerationszeit	DT	ms	PW-Doppler
Myokardbewegung			
passiv	E'	mm/s	Gewebedoppler
aktiv	A'	mm/s	Gewebedoppler
Auswurffraktion	EF	%	$=(\text{LVVd}-\text{LVVs}) \cdot 100$
Verkürzungsfraktion	FS	%	$=(\text{LVIDd}-\text{LVIDs})/\text{LVIDd} \cdot 100$

2.6 Organentnahme

Zu den definierten Zeitpunkten (15, 100, 130 Wochen) wurden die Tiere durch intraperitoneale Gabe von Thiopental (150 mg/kg) narkotisiert, das Körpergewicht erhoben sowie einzelne Organe (Herz, Lunge, Leber, Gonadenfett, *Musculus gastrocnemius* – Gastrocnemius, *Musculus soleus* – Soleus) entnommen und gewogen. Ein Teil des Herzens, des Gastrocnemius, der Leber und die restlichen Organe wurden bis zur weiteren Verwendung bei -80 °C gelagert. Die Länge der Tibia des jeweiligen Tieres wurde gemessen und als Größenstandard verwendet.

2.7 Mitochondrienfunktion

2.7.1 Mitochondrienisolation

Die Mitochondrienisolation der IFM und SSM des Herzens und des Gastrocnemius erfolgte basierend auf dem Prinzip der differentiellen Zentrifugation nach Palmer et al. (Palmer et al. 1977). Alle Arbeitsschritte wurden auf Eis oder bei 4 °C durchgeführt. Für die Herstellung der Gewebekomogenate wurden im Anschluss an die Organentnahme das Herz und der Gastrocnemius in Chappel-Perry-Puffer 1 (CP1) und die Leber in Isolationspuffer gespült. Anschließend wurden die Gewebe mit einer Schere zerkleinert und mit 10 ml/g CP2 (Herz, Skelettmuskel) bzw. Isolationspuffer (Leber) verdünnt. Es erfolgte eine mechanische Zerkleinerung (Ultra Turrax T25; 2,5 s bei 9000 rpm) und Homogenisierung (Potter-Homogenisator, 2 Durchzüge mit einem lockeren Pistill bei 800 rpm) des Herzens und des Skelettmuskels. Die Leber wurde ebenfalls homogenisiert (10 Durchzüge). Aus dem Herzen und dem Gastrocnemius wurden zwei Subpopulationen, die IFM und die SSM isoliert (Abbildung 1). Nach der ersten Zentrifugation des Homogenats bei 580 x g, befanden sich die Lebermitochondrien bzw. die SSM im Überstand und die IFM im Pellet. Der Überstand wurde abgegossen und aufbewahrt. Das Pellet wurde mit CP1 Puffer resuspendiert. IFM wurden durch eine 10-minütige Inkubation mit der Protease Trypsin (5 mg/ml) und folgender Resuspension mit CP2 gewonnen. Durch eine erneute Zentrifugation bei 580 x g befanden sich die IFM nun ebenfalls im Überstand. Im Anschluss an die Isolation der Mitochondrien folgten drei Aufreinigungsschritte (Resuspension des Herzens und des Gastrocnemius mit CP2 bzw. der Leber mit Waschpuffer) mit anschließender Zentrifugation bei 5900 x g. Im letzten Schritt wurden die isolierten Mitochondrien entsprechend der eingesetzten

Gewebemengen in KME-Puffer (0,3 ml/g) aufgenommen und für weitere Analysen auf Eis gelagert.

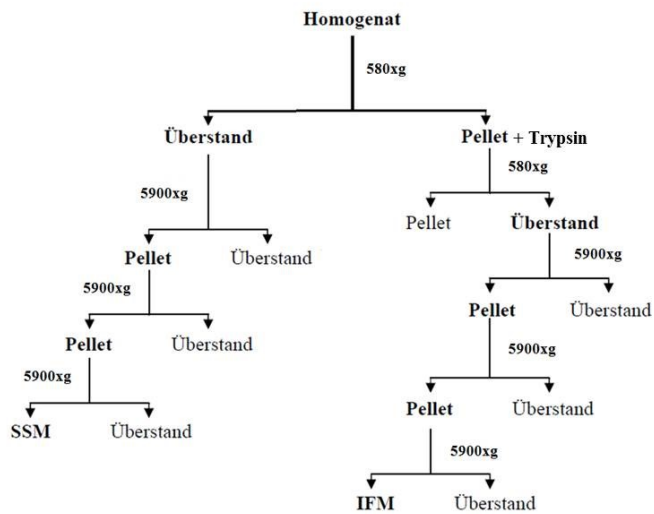


Abbildung 1 – Zentrifugationsprotokoll für die Gewinnung interfibrillärer (IFM) und subsarkolemmaler Mitochondrien (SSM)

Folgende Puffer wurden für die Isolation der Mitochondrien aus dem Herzen, Skelettmuskel und der Leber verwendet:

Chappel-Perry-Puffer 1 (CP1)	100 mM Kaliumchlorid (KCl) 50 mM 3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure (MOPS) 1 mM EGTA 5 mM MgSO ₄ 1 mM ATP → pH 7,4	Chappel-Perry-Puffer 2 (CP2)	CP1 + 2 mg/ml Rinderserumalbumin (BSA)
Isolationspuffer	200 mM Mannitol 10 mM Sucrose 5 mM 2-ethansulfonsäure (HEPES) 1 mM EGTA → pH 7,4	Waschpuffer	200 mM Mannitol 10 mM Sucrose 5 mM Hepes → pH 7,4
KME-Puffer	100 mM KCl 50 mM MOPS 0,5 mM EGTA → pH 7,4		

2.7.2 Citratsynthaseaktivität

Unmittelbar nach der Isolation der Mitochondrien wurde die Citratsynthaseaktivität als Marker für die mitochondriale Menge nach der Methode von Srere bestimmt (Srere 1969). Die Homogenate und isolierten Mitochondrien des Herzens, des Gastrocnemius und der Leber

wurden mit KEA-Puffer (180 mM KCl; 10 mM EDTA; 0,5 % BSA; pH 7,4) verdünnt. Im nächsten Schritt erfolgte eine Weiterverdünnung im Verhältnis 1:1 mit jeweils 5 % Triton oder 0,9 % Kochsalzlösung (NaCl) und eine Inkubationszeit von 5 min. Anschließend wurden die Verdünnungen mit *Aqua destillata* (Aqua dest.), Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA; 125 μ M) und dem Farbstoff 5,5'-dithiobis-(2nitrobenzoesäure) (DTNB; 500 μ M) versetzt. Nach der Zugabe von Oxalacetat (500 μ M) wurde die Reaktion gestartet. Durch die Reaktion werden CoA-SH Gruppen frei und binden an DTNB, wodurch Mercaptid-Anionen entstehen. Diese wurden bei einer Wellenlänge von 412 nm für 150 s und bei einer Temperatur von 25 °C photometrisch gemessen. Anschließend wurde die mittlere Steigung der Extinktionsgeraden bestimmt. Proben, die mit NaCl inkubiert wurden, geben Aufschluss über die freie Citratsynthaseaktivität. Durch die mit Triton inkubierten Proben wurde die Gesamtaktivität der Citratsynthase gemessen. Durch die Subtraktion der beiden Anteile erhält man die latente Citratsynthaseaktivität.

2.7.3 Durchflusszytometrie

Frisch isolierte Mitochondrien wurden – getrennt nach Gewebe und Population – mittels Durchflusszytometrie nach der Methode von Dabkowski et al. morphologisch untersucht (Dabkowski et al. 2009). Die Mitochondrien wurden hierfür 1:1000 mit KME-Puffer verdünnt. Im Durchflusszytometer FC500 (Beckman Coulter) wurde durch das Vorwärtsstreulicht die Größe und durch das Seitenstreulicht die Komplexität der Mitochondrien bestimmt. Die Messung wurde nach dem Erreichen von 10000 Mitochondrien oder nach maximal 150 s beendet.

2.7.4 Bestimmung der respiratorischen Kapazität der Mitochondrien

Der Sauerstoffverbrauch isolierter Mitochondrien wurde mit Hilfe einer Clark-Sauerstoffelektrode nach dem Prinzip von Clark et al. (Clark et al. 1953) bestimmt. Die Reaktionskammer mit einem Gesamtvolumen von 1 ml wurde durch einen umgebenden Wassermantel auf eine kontinuierliche Temperatur von 25 °C gehalten. Durch einen Verschlussstift mit enthaltener Kapillare wurde die Reaktionskammer verschlossen und die nötigen Substrate und Reagenzien mit Hilfe einer Spritze zugegeben. Die Substrate werden ins Mitochondrium transportiert und liefern Elektronen an die einzelnen Komplexe. Dies erfolgt über die Oxidation der Reduktionsäquivalente Nicotinamadenindinukleotid (NADH) an Komplex I und reduziertes Flavin-Adenin-Dinukleotid (FADH₂) an Komplex II. Die

Elektronen werden an Komplex IV auf Wasserstoff übertragen. Protonen (H^+) werden an Komplex I, III und IV in den Intermembranraum gepumpt und somit ein Protonengradient erzeugt. Über den Rückfluss der Protonen wird durch die ATP Synthase ATP generiert (Abbildung 2).

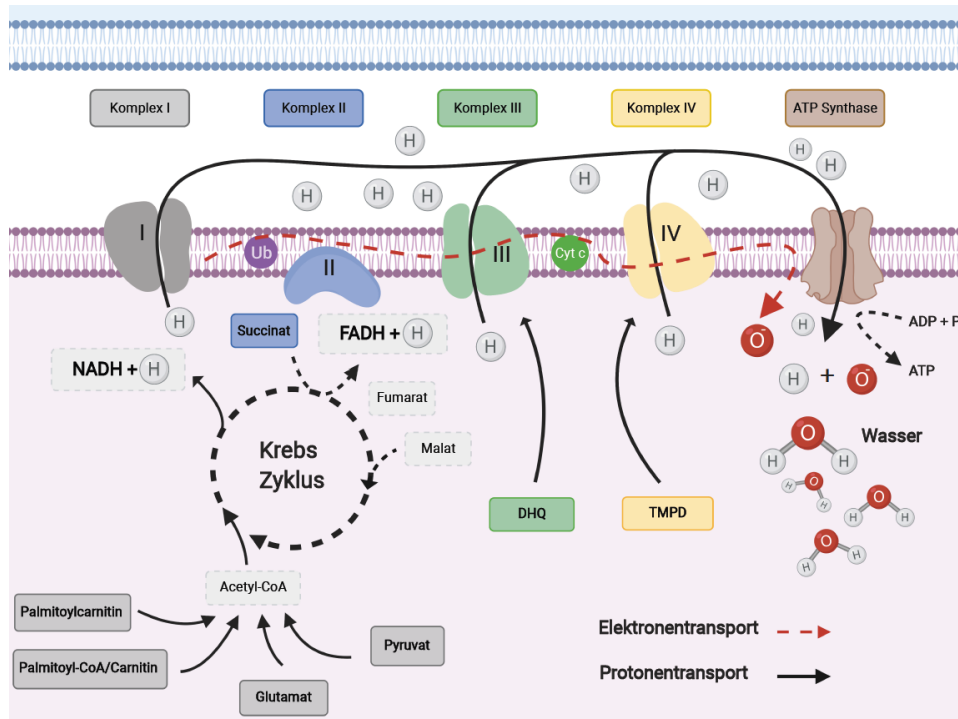


Abbildung 2 – Mitochondriale Atmungskette und verwendete Substrate

Für die polarographische Messung der respiratorischen Kapazität wurde zunächst die Sauerstoffelektrode nach der Methode von Lehninger et al. kalibriert (Lehninger 1951). Hierzu wurde die Kammer mit 950 μ l Respirationsmedium (100 mM KCl; 50 mM MOPS; 1 mM EGTA; 5 mM Kaliumdihydrogenphosphat – KH_2PO_4 ; 1 mg/ml fettfreies BSA; pH 7,4) und 50 μ l Mitochondrien, deren Doppelmembranen durch wiederholte Einfrier- und Auftauprozesse desintegriert waren, befüllt. Durch mehrfache Zugabe von NADH (25 μ l; 2 mM) wurde eine Kalibrierungskurve erstellt. Dabei werden 2 NADH Moleküle pro verbrauchtem Sauerstoffatom benötigt. Die Extinktion des eingesetzten NADH wurde durch die photometrische Messung bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt und mit Hilfe der Kalibrierungskurve der spezifische Kalibrierungsfaktor – Anzahl der verbrauchten Sauerstoffatome pro Millimeter (nAtomeO/mm) – berechnet.

Nach der Kalibrierung wurden isolierte Mitochondrien in einer Menge, die 1 U/ml Citratsynthaseaktivität entspricht, in die Reaktionskammer gegeben. Mit Respirationspuffer wurde auf 1 ml aufgefüllt und das Gemisch mit einem Rührfisch permanent gerührt. Anschließend wurden verschiedene Zustände gemessen (Abbildung 3), die ursprünglich von

Chance und Williams definiert wurden (Chance und Williams 1955). Durch die Zugabe verschiedener Substratkombinationen (Tabelle 2) stellt sich die substratmotivierte Atmung (State 2) ein. Anschließend wurde Adenosindiphosphat (ADP; 10 mM) zugegeben und somit die ADP-stimulierte Respiration (State 3) bestimmt, welche im Folgenden als maximale respiratorische Kapazität bezeichnet wird. Die ADP-limitierte Atmung (State 4) trat ein, nachdem das zugegebene ADP vollständig zu ATP phosphoryliert wurde. Dieser Zustand wird im Folgenden als basale Respiration bezeichnet und kann entweder durch unspezifische ATP spaltende Enzyme oder durch den Kopplungsgrad der Mitochondrien, der mit einem aufrechterhaltenen Protonengradient zusammenhängt, beeinflusst werden (Gnaiger 2014, Brand und Nicholls 2011). Durch erneute Zugabe von ADP (100 mM) wurde wiederum die maximale Respiration stimuliert und anschließend Dinitrophenol (DNP; 10 mM) als Entkoppler zugegeben. Dieser Zustand dient der Untersuchung möglicher Defekte der ATP-Synthase oder der ATP Transportsysteme (Puchowicz et al. 2004). Die Berechnung des Sauerstoffverbrauchs der einzelnen Zustände erfolgte unter der Berücksichtigung des Kalibrierungsfaktors. Als Bezugspunkt diente der absolute Proteingehalt der isolierten Mitochondrien. Anhand der Respirationskurven wurde zusätzlich das Verhältnis von produziertem ATP pro verbrauchtem Sauerstoffatom (ADP/O) bestimmt. Dieses wird durch die Menge ATP, die pro verbrauchtem Sauerstoffatom entsteht, bestimmt und ist ein Maß für die Effizienz der oxidativen Phosphorylierung (Chance und Williams 1955, Estabrook 1967).

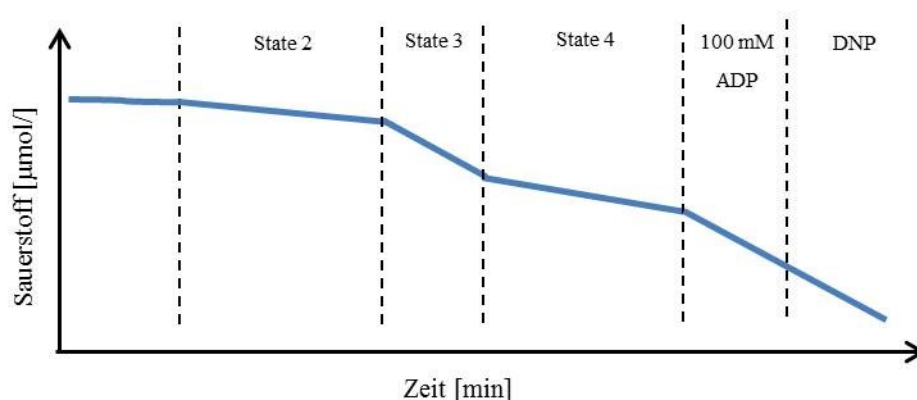


Abbildung 3 – Schematische Darstellung der Bestimmung der maximalen respiratorischen Kapazität. ADP – Adenosindiphosphat, DNP – Dinitrophenol

Um Hinweise für mögliche Defekte an einzelnen Komplexen der Atmungskette oder an Stoffwechselwegen zu erhalten, wurden verschiedene Substratkombinationen eingesetzt (Tabelle 2). In Abhängigkeit vom Substrat werden dabei verschiedene mitochondriale Transportsysteme und Dehydrogenasen bedient. Bei der Zugabe von Komplex I und II spezifischen Substraten werden die Reduktionsäquivalente NADH und FADH₂ gebildet und

in die Atmungskette eingespeist. Für Komplex I wurden Glutamat als Aminosäurederivat, Pyruvat als Abbauprodukt der Glukose und die Fettsäuren Palmitoylcarnitin bzw. Palmitoylcoenzym A + Carnitin verwendet. Die zusätzliche Zugabe von Malat führt zur Bildung von Oxalacetat, das mit Acetyl-CoA zu Citrat reagiert und den Ablauf des Citratzyklus ermöglicht. Weiterhin reduziert Malat die Bildung von FADH₂ und somit die Elektronenzufuhr an Komplex II der Atmungskette. Succinat fungiert als Substrat für Komplex II. Das künstliche Substrat Duroquinol (DHQ) wurde als Elektronendonator für Komplex III und das künstliche Substrat Tetramethylphenylendiamin (TMPD) als Elektronendonator für Komplex IV verwendet. Rotenon wurde als Komplex I Inhibitor eingesetzt und verhindert den Elektronenrückfluss auf Komplex I. Die Gabe von Natriumazid (0,1 M) diente in Kombination mit TMPD der Bestimmung der nichtspezifischen TMPD Respiration.

Tabelle 2 – Übersicht über die Substratzugaben

Substrat	Konzentration	Zugabemenge
Glutamat	1 M	10 µl
Glutamat/Malat	1 M/0,5 M	10 µl/5 µl
Pyruvat/Malat	1 M/0,5 M	10 µl/5 µl
Succinat/Rotenon	1 M/0,75 mM	10 µl/5 µl
Palmitoylcarnitin/Malat	2 mM/0,5 M	10 µl/5 µl
Palmitoyl-CoA/Carnitin/Malat	2 mM/0,1 M/0,5 M	5 µl/20 µl/5 µl
Duroquinol/Rotenon	50 mM/0,75 mM	10 µl/5 µl
TMPD gelöst in Ascorbat/Rotenon	25 mM in 250 mM/0,75 mM	20 µl/5 µl

2.7.5 Proteinbestimmung

Die Bestimmung des absoluten Proteingehalts isolierter Mitochondrien, der Gewebekomogenate sowie aufgearbeiteter Gewebeproben (für die Bestimmung der antioxidativen Kapazität und Proteinschäden) wurde nach der Methode von Bradford ermittelt (Bradford 1976). Der Farbstoff *Coomassie brilliant blue* G-250 ändert sein Absorptionsmaximum von 465 auf 595 nm, indem er an aromatische und basische Aminosäuren bindet. Die Proben wurden mit Aqua dest. verdünnt und 5 µl in eine 96-Loch-Platte gegeben und mit 200 µl Farbstofflösung versetzt (Farbstoff 1/5 mit Aqua dest. verdünnt). Anschließend wurde die Extinktion bei 595 nm und 25 °C photometrisch bestimmt. Die Proteinkonzentration der einzelnen Proben wurde anhand einer mitgeführten Standardkurve aus BSA (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/ml) berechnet.

2.7.6 Mitochondriale ROS-Produktion

Die mitochondriale Superoxidbildung wurde in frisch isolierten, intakten Mitochondrien nach der Methode von Barja et al. bestimmt (Barja 2002). Superoxid dismutiert zu Wasserstoffperoxid (H_2O_2), welches Homovanillinmandelsäure (HVA) in der Anwesenheit von Meerrettichperoxidase (HRP) zu einem fluoreszierenden Dimer oxidiert. Die H_2O_2 Konzentration spiegelt die an der Atmungskette entstehenden Superoxidanionen wider. Für die Messung wurden isolierte Mitochondrien (0,1 mg/ml) zum Reaktionspuffer (145 mM KCl; 0,1 mM EGTA; 0,1 % Albumin; 30 mM Hepes; 5 mM KH_2PO_4 ; 3 mM $MgCl_2$) gegeben. Weiterhin wurden HRP (3 U/ml), HVA (0,1 mM) und Oligomycin (1 μ g/ml) – als Inhibitor der ATP-Synthase – in allen Untersuchungen zugegeben. Je nach Messbedingung folgten weitere Zugaben, um die basale oder die maximale ROS-Produktion zu bestimmen (Tabelle 3). Als Substrate dienten entweder Glutamat (10 mM) oder Succinat (5 mM). Rotenon (10 μ M) wurde für die Hemmung des Elektronenflusses an Komplex I und Antimycin A (62,5 nM) für die Hemmung des Elektronenflusses an Komplex III verwendet. Durch die zusätzliche Zugabe von SOD (50 U/ml) kann unterschieden werden, ob ROS nur in die Matrix oder auch in den Intermembranraum entlassen werden. Zur Ermittlung der H_2O_2 Konzentrationen der Proben wurde eine Standardkurve mitgeführt (0,5; 1; 2; 4; 6; 8 μ M). Jede Probe wurde in einer Dreifachbestimmung in einer 96-Loch-Platte gemessen. Die Messung der Fluoreszenzabnahme erfolgte bei 37 °C, bei einer Anregung von 312 nm und einer Emission von 420 nm über einen Zeitraum von 30 min (Intervall: 3 min).

Tabelle 3 – Herkunft der ROS unter verschiedenen Messbedingungen

Herkunft und Abgabeort der ROS	Glutamat	Succinat	Oligomycin	Rotenon	Antimycin A	SOD
Basal KI + KIII, Matrix	x		x			
Max. KI, Matrix	x		x	x		
Max. KI, Matrix + Intermembranraum	x		x	x		x
Max. KIII und KI, Matrix	x		x		x	
Max. KIII und KI, Matrix + Intermembranraum	x		x		x	x
Basal KIII mit Rückfluss an KI, Matrix		x	x			
Basal KIII, Matrix		x	x	x		
Basal KIII Matrix + Intermembranraum		x	x	x		x
Max. KIII, Matrix		x	x	x	x	
Max. KIII Matrix + Intermembranraum		x	x	x	x	x

KI/III – Komplex I/III, Max. – maximal

2.7.7 Calcium-induziertes Anschwellen der Mitochondrien

Die Calcium-Sensitivität der MPTP wurde durch das Calcium-induzierte Anschwellen der Mitochondrien nach der Methode von Khairallah et al. bestimmt (Khairallah et al. 2010). Mitochondrien absorbieren Licht bei 450 nm. Durch die Gabe von Calcium in einer bestimmten Konzentration wird die Öffnung der MPTP induziert, der osmotische Druck erhöht sich in den Mitochondrien und sie schwellen durch einströmendes Wasser an. Das Schwellen führt zu einem Verlust der Kompaktheit. Das heißt, die Mitochondrien werden transluzenter und die Absorption nimmt ab. Für die Messung wurden isolierte Mitochondrien verdünnt und jeweils 10 µl in eine 96-Loch-Platte gegeben. Als nächstes wurden 200 µl des Reaktionspuffers (100 mM KCl; 50 mM MOPS; 5 mM KH_2PO_4 ; 1 mM Magnesiumchlorid/ MgCl_2 ; 5 µM EGTA; 5 mM Glutamat; 2,55 mM Malat) pro Loch zugegeben. Die photometrische Messung erfolgte bei 37 °C, einer Wellenlänge von 450 nm und mit einem Messabstand von 7 s. Nach den ersten zwei Minuten wurde über einen Extruder 5 µl Calcium (8,4 mM CaCl_2) appliziert. Jede Probe wurde jeweils mit Calcium und ohne Calcium als Kontrolle gemessen. Die Herstellung aller Lösungen erfolgte ohne der Verwendung von Glasware, um die Calciumkonzentration durch das Herauswaschen von Calciumoxiden zu verhindern. Anhand der Messkurve wurden die Geschwindigkeit (Abnahme der Absorption über die Zeit) und der Endpunkt (Abnahme der Absorption zwischen erstem und letztem Messpunkt) bestimmt.

2.8 Aktivität antioxidativer Enzyme

Die ersten Schritte der Aufarbeitung der Gewebeproben des Herzens und des Skelettmuskels erfolgten für die Bestimmung der Aktivitäten der SOD, Katalase sowie GPx in gleicher Weise. Die Messung der antioxidativen Enzymaktivitäten sowie der oxidativen Schäden (Abschnitt 2.11-2.13) wurden unter meiner Betreuung von der medizinischen Doktorandin Rita Musleh durchgeführt. Tiefgefrorenes Gewebepulver wurde zunächst mit 10 µl Lysepuffer (40 mM Hepes; 1 mM EDTA; 2 mM MgCl_2 ; 0,33 µM DTNB; 1,67 µM Carnitin; pH 7,4) pro 1 mg Gewebe versetzt. Anschließend erfolgte eine Homogenisierung (Potter-Homogenisator) für 30 s bei 750 rpm und eine anschließende Zentrifugation für 5 min bei 3000 x g. Der Überstand wurde bei -20 °C gelagert. Für die Bestimmung der Aktivität der GPx erfolgte eine weitere Zentrifugation des Überstands für 15 min bei 10000 x g. Der daraus entstandene Überstand wurde ebenfalls bei -20 °C bis zur Aktivitätsmessung gelagert.

Superoxiddismutase

Der Farbstoff Pyrogallol wird in alkalischer Lösung autooxidiert und die entstehenden Chinonverbindungen können bei 420 nm photometrisch bestimmt werden. In der Gegenwart von SOD wird diese Autooxidation gehemmt. Die Hemmung ist direkt proportional zur Enzymaktivität der SOD. Eine Unit (U) Enzymaktivität wird als 50 %-ige Inhibition der Pyrogallolautooxidation definiert (Marklund und Marklund 1974). 10 µl der aufgearbeiteten Gewebeproben bzw. Aqua dest. (100 %-Wert) wurden mit 280 µl Puffer (50 mM Tris; 2 mM KCN; pH 8,5) für 10 min inkubiert. Nach Zugabe von 10 µl Pyrogallol (8 mM Pyrogallol; 10 mM Salzsäure/HCl) erfolgte die Messung über einen Zeitraum von einer Minute, bei einer Wellenlänge von 420 nm und einer Temperatur von 25 °C.

Katalase

Die Bestimmung der Aktivität der Katalase erfolgte nach einer modifizierten Form von Aebi sowie von Weydert und Cullen (Aebi 1984, Weydert und Cullen 2010). Dabei wurde die Extinktion von Wasserstoffperoxid bei 240 nm bestimmt. Der Umsatz von einem µmol Wasserstoffperoxid pro Minute entspricht einer U Katalaseaktivität. Für die Messung wurden 5 µl der Gewebeproben und der Positivkontrolle (frische Katalase: 400 U/ml in Phosphatpuffer) mit 45 µl Phosphatpuffer versetzt. Nach der Zugabe von 100 µl H₂O₂ (30 µl von 30 %-igem H₂O₂ in 10 ml Phosphatpuffer) startete die Reaktion. Über einen Zeitraum von einer Minute wurde die Abnahme der Extinktion bei 240 nm und 25 °C gemessen.

Phosphatpuffer	pH von Lösung II mit Lösung I auf 7,8 einstellen	Lösung I	1 M KH ₂ PO ₄ (10 ml)
		Lösung II	1 M K ₂ HPO ₄ (50 ml)

Glutathionperoxidase

Die Aktivitätsmessung der GPx beruht auf dem Regenerationskreislauf des Antioxidans Glutathion. Dabei korreliert die Abnahme des reduzierten Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH)-Gehalts mit der Aktivität der GPx und kann photometrisch bestimmt werden. Die Umwandlung von 1 µmol NADPH zur oxidierten Form (NADP) pro Minute entspricht einer U GPx (Paglia und Valentine 1967, Tappel 1978). Die Gewebeproben (je 15 µl) wurden für 10 min mit 200 µl Messpuffer bei 37 °C inkubiert. Anschließend erfolgte die Zugabe von 10 µl Cumolhydroperoxid (1,5 mM) und die Messung startete. Bei 37 °C wurde die Extinktion bei 340 nm für drei Minuten bestimmt.

Messpuffer	Trispuffer	Trispuffer	1 M KH_2PO_4 (10 ml)
	0,2 mM NADPH		1 M K_2HPO_4 (50 ml)
	9 mM GSH		
	7,5 U/ml Glutathionreduktase		

2.9 Oxidative Proteinschäden

Die Bestimmung des Carbonylgehalts im Herzen und Skelettmuskel beruht auf der Reaktion von Carbonylen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) zu Hydrazone, welches photometrisch bestimmt wird (Wehr und Levine 2013, Reznick und Packer 1994). Gefrorenes Gewebepulver wurde mit 1 ml Probenpuffer versetzt (1 M Dinatriumhydrogenphosphat; 1 M Natriumdihydrogenphosphat; 0,5 M EDTA; 1,22 mM Digitonin; 0,1 mM Phenylmethylsulfonylfluorid; 10 mM Leupeptin; 1 mM Pepstatin A; 1,54 mM Aprotinin). Es folgte eine Homogenisierung bei 250 Umdrehungen und eine 15 minütige Inkubation. Im Anschluss wurde für 10 min bei 6000 x g zentrifugiert, der Überstand mit TCA (20 %) versetzt und erneut für 2 min bei 2000 x g zentrifugiert. Das entstandene Pellet wurde mit 500 µl DNPH-Lösung (10 mM DNPH in 2,5 M HCl) bzw. als Kontrollwert mit HCl (2,5 M) versetzt, bei 300 Umdrehungen homogenisiert und im Dunkeln für 15 min inkubiert. Weiterhin wurde 500 µl TCA (20 %) hinzugegeben, für 2 min bei 2000 x g zentrifugiert und das entstandene Pellet dreimal mit 1 ml Ethanol-Ethylacetat gewaschen. Nach der Zugabe von 200 µl Guanidinhydrochlorid (6 M Guanidinhydrochlorid in 500 mM KCl) wurde für 2 min bei 2000 x g zentrifugiert. Alle Schritte liefen bei Raumtemperatur ab. Für die Messung wurden 60 µl vom Überstand der aufbereiteten Gewebeproben in Doppelbestimmung in eine 96-Loch-Platte gegeben. Für den Hintergrund wurden 60 µl Guanidin-HCl verwendet. Die photometrische Messung erfolgte bei 370 nm (für Carbonyle) und zusätzlich bei 276 nm (für Proteingehalt) und wurde anschließend als mol Carbonyl/mol Protein berechnet.

2.10 Oxidative Lipidschäden

Als Marker der oxidativen Lipidschädigung wurde HNE bestimmt. Die Bestimmung der Expression der HNE-modifizierten Proteine erfolgte mit der Methode des Western Blots (Towbin et al. 1979, Mahmood und Yang 2012). Alle verwendeten Lösungen und Puffer sind im Folgenden dargestellt.

Stammlösungen	10 % Triton-X 100 1 M Tris-HCl, pH 7,5 2 M NaCl 0,5 M NaF 0,25 M Na ₄ P ₂ O ₇	Coomassie-Lösung (in 100 ml H ₂ O)	25 ml Isopropanol (99,7 %) 10 ml Essigsäure (100 %) 50 mg Coomassie
Trenngelpuffer (TG-P)	0,36 M Tris-HCl 1,14 M Tris Base 0,4 % SDS-Lösung → pH 8,8	Sammelgel-puffer (SG-P)	0,48 M Tris-HCl 16 mM Tris Base 0,4 % SDS-Lösung
Probenpuffer	20 mM Tris pH 7,5 50 mM NaCl 25 mM NaF 12,5 mM Na ₄ P ₂ O ₇ 44 mM PMSF 2 mM Na ₃ VO ₄ 1 % Triton-X 1 Tablette Complete mini pro 10 ml	Lämmli 3 x	100 mM Dithiothreitol 3 mM EDTA 2,3 mM Tris-HCl 3 % SDS 40 % Glycerol 0,02 % Bromphenolblau (1 %)
Ablösepuffer	1 M Glycin pH 1,8	Blockier-Lösung	5 % Milchpulver in TBS-T
TBS 10 x Stamm-Lösung (1 L)	87,6 g NaCl 60,5 g Tris → pH 8,0	TBS-T	1/10 TBS 1/1000 Tween
Transferpuffer 10 x Stamm-Lösung (1 L)	30 g Tris Base 2 g SDS 141 g Glycin	Laufpuffer 10 x Stamm-Lösung (1 L)	144 g Glycin 10 g SDS 30 g Trizma Base
Chemilumineszenz	Serva Reagenz 1/1000 H ₂ O ₂ (30 %)	Ammonium-peroxodisulfat (APS)	100 mg/ml

Zunächst wurden die bei -80 °C gelagerten Herz- und Skelettmuskelgewebeprobe unter ständiger Zugabe von Flüssigstickstoff gemörsert und zu Pulver verarbeitet. Es erfolgte eine Zugabe von 50 mg Gewebepulver zu 450 µl Probenpuffer. Nach einem Homogenisierungsschritt wurde bei 4 °C und 16000 x g für 10 min zentrifugiert. Mit dem Überstand wurde eine Proteinbestimmung (Abschnitt 2.7.5) durchgeführt und mit Lämmli-Puffer auf 25 µg Protein/15 µl verdünnt. Die Proteinverdünnungen wurden bei -20 °C gelagert oder direkt zur Weiterverwendung für 10 min bei 95 °C (zur Denaturierung der Proteine) erhitzt. Für die Elektrophorese wurden ein Trenngel (10 %) und ein Sammelgel (5 %) vorbereitet (Tabelle 4). Die mit Lämmli verdünnten Proben (10 µl) sowie der Proteinmarker (5 µl, Serva VisiBlot Standard) wurden in die einzelnen Taschen des Gels gegeben. Die Elektrophorese lief anschließend für 15 min bei 10 mA/Gel sowie für 45 min bei 25 mA/Gel.

Tabelle 4 – Elektrophoresegelezusammensetzung

Substrat	Sammelgel 5 %	Trenngel 10 %
Aqua dest. [ml]	2,88	2,05
Polyacrylamid 30 % [ml]	0,83	1,67
TG-P [ml]	/	1,25
SG-P [ml]	1,25	/
Tetramethylethylenediamine [μ l]	5	5
APS	33	33

Im Anschluss an die Gelelektrophorese wurden die Proteine durch Western Blot (2 h, 13V) auf eine Polyvinylidene-difluorid-Membran (Roth, 0,45 μ m Poren) übertragen. Nach dem Transfer wurde die Membran in TBS-T für 5 min gewaschen und für 2 h bei Raumtemperatur mit 5 % Milchpulver blockiert. Die blockierte Membran wurde erneut gewaschen (2 Wiederholungen) und über Nacht bei 4 °C mit dem Primärantikörper (Anti-HNE; #ab46545, AbChem) mit einer Verdünnung von 1/500 (in TBS + 5 % BSA) inkubiert. Als Referenzprotein wurde Anti-GAPDH (#ab7269; AbChem) verwendet. Am nächsten Tag wurde die Membran wiederholt mit TBS-T gewaschen und für 2 h mit dem an HRP gekoppelten Sekundärantikörper (Anti-Rabbit IgG; Verdünnung 1/10000 in TBS-T; RPN4301; Merck) inkubiert. Die Detektion der Proteine erfolgte mit einem Chemilumineszenzreagenz (SERVA). Die Bilder wurden als 8 bit TIFF Format gespeichert und die Banden, die die HNE-gebundenen Proteine repräsentieren, wurden anschließend mit der Software ImageJ ausgewertet.

2.11 Statistik

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM) angegeben. Ausreißerwerte wurden durch die Methode nach Grubbs ermittelt (Grubbs 1950). Die Programme SigmaPlot und SigmaStat dienen der grafischen Darstellung sowie der statistischen Analysen. Nach der Prüfung auf Normalverteilung (Shapiro-Wilk-Test) wurden Unterschiede zwischen zwei Gruppen durch den unpaarigen zweiseitigen Student-t-Test ermittelt. Bei nicht vorhandener Normalverteilung wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt. Unterschiede zwischen vier Gruppen wurden durch eine mehrfaktorielle Varianzanalyse in Kombination mit einem Holm-Sidak-Test (Post-hoc-Test) bestimmt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit (p) von $p < 0,05$ wurde als signifikanter Unterschied angenommen.

3 Ergebnisse

3.1 Unterschiede zwischen adulten und alten Ratten mit hoher oder niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit

3.1.1 Körperliche Leistungsfähigkeit

Abbildung 4 zeigt die körperliche Leistungsfähigkeit von adulten und alten HCR und LCR im Laufstest. Der schnellste Wert der drei Laufstests wurde als maximale Laufgeschwindigkeit gewertet. Diese war bei adulten HCR unabhängig vom Geschlecht ungefähr doppelt so hoch wie bei LCR. Auch die mittlere Laufstrecke und Laufzeit folgten diesem Muster. Im Alter nahm die maximale Laufgeschwindigkeit bei HCR sowie bei männlichen LCR ab. Weiterhin sank die Laufstrecke im Alter unabhängig vom Phänotyp, während die Laufzeit nur bei HCR abnahm. Entgegen den Erwartungen zeigten HCR im Alter eine stärkere Abnahme der körperlichen Leistungsfähigkeit. Insgesamt war jedoch die körperliche Leistungsfähigkeit unabhängig vom Alter bei LCR geringer als bei HCR.

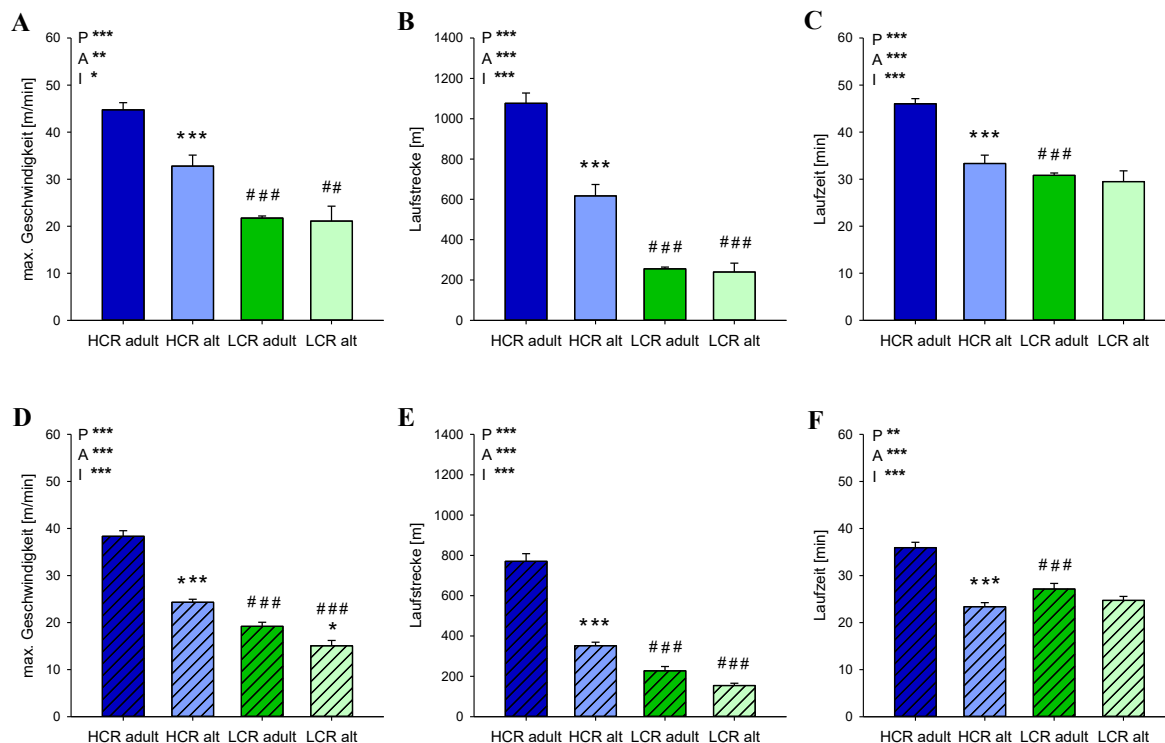


Abbildung 4 – Maximale Laufgeschwindigkeit (A+D), mittlere Laufstrecke (B+E) und Laufzeit (C+F) von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, max. – maximale, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# $p < 0,05$; **/### $p < 0,01$; ***/#### $p < 0,001$. $n = 4-12$

3.1.2 Glukose- und Insulintoleranz

Abbildung 5 stellt die Insulin- und Glukosetoleranz der HCR und LCR dar.

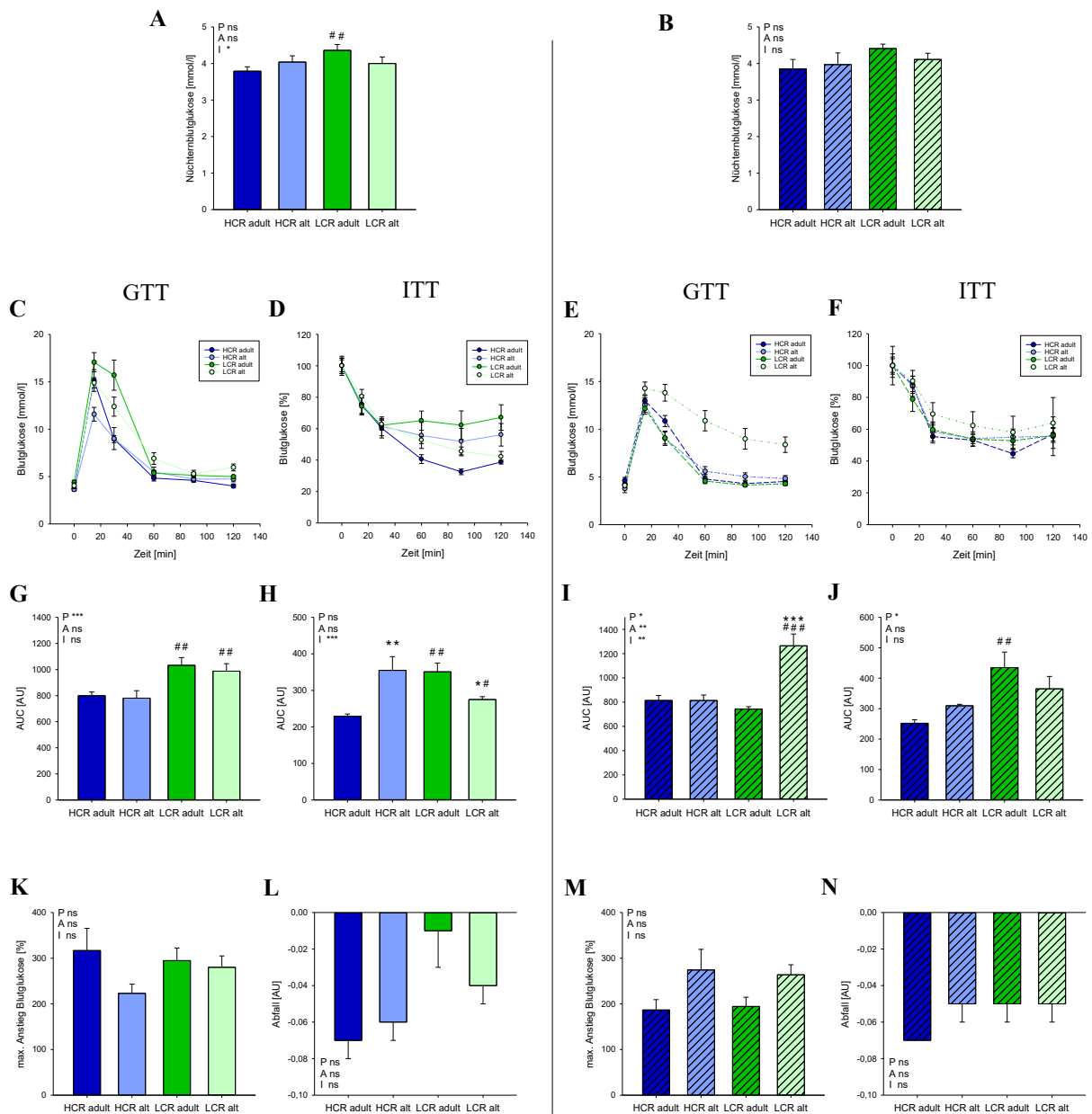


Abbildung 5 – Insulin- und Glukosetoleranz von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). Nüchternblutglukose (A+B), Blutzuckerverlaufskurve während des Glukosetoleranztests (GTT; C+E), Blutzuckerverlaufskurve während des Insulintoleranztests (ITT; D+F), Fläche unter der Kurve (AUC) des GTT (G+I), AUC des ITT (H+J), maximaler Anstieg der Blutglukose während des GTT (K+M) und Stärke des Abfalls des Blutglukosespiegels nach den ersten 30 min des ITT (L+N). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, AU – *Arbitrary unit*, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/# p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-13

Die Nüchternblutglukose war bei adulten, weiblichen LCR höher als bei HCR (Abbildung 5). Diese Tendenz zeigte sich auch bei männlichen LCR. Das Alter führte zu keiner Änderung. Die Fläche unter der Kurve (AUC) des Glukosetoleranztests war in adulten, weiblichen LCR höher als bei HCR. Dies ist ein Zeichen für eine verminderte Glukosetoleranz. Im Alter zeigten nur männliche LCR eine Verminderung der Glukosetoleranz. Gleichzeitig war bei alten, männlichen LCR die Glukosetoleranz niedriger als bei alten HCR. Der maximale Anstieg der Blutglukose war während des Glukosetoleranztests in allen Gruppen vergleichbar. Die AUC des Insulintoleranztests war in adulten LCR unabhängig vom Geschlecht höher als bei HCR, was ein Zeichen für eine verminderte Insulintoleranz ist. Im Alter nahm bei weiblichen HCR die Insulintoleranz zu und bei LCR ab. Alte, weibliche LCR zeigten eine höhere Insulintoleranz als alte HCR. In der Gesamtheit zeigten LCR im Vergleich zu HCR eine niedrigere Insulin- und Glukosetoleranz als Anzeichen eines metabolischen Phänotyps. Bei männlichen LCR wurde dieser Phänotyp im Alter verstärkt.

3.1.3 Kardiale Funktion

Bei adulten Tieren unterschieden sich nur die Weibchen (Tabelle 5). Die Verkürzungsfraction (FS) war bei adulten LCR höher als bei HCR, was auf eine höhere systolische Funktion hinweist. Zudem zeigten weibliche HCR unabhängig vom Alter einen größeren Durchmesser des linken Ventrikels (LVIDd) als LCR. Im Alter sank die Verkürzungsfraction bei weiblichen HCR und LCR als Zeichen einer verminderten systolischen Funktion. Die Verminderung war bei HCR stärker. Die Herzrate sank im Alter unabhängig vom Phänotyp und Geschlecht. Bei Männchen sank im Alter der Durchmesser des linken Ventrikels als Zeichen einer beginnenden Dilation. Dieser Effekt war stärker bei HCR. Die Summe der Wanddicken des linken Ventrikels (IVSd + LVPWd) nahm im Alter bei männlichen HCR und LCR – als Zeichen einer Hypertrophie – gleichermaßen zu. Parallel dazu war das E/A und das E/E' Verhältnis bei männlichen HCR und LCR erhöht. Dies gibt Hinweise auf eine Abnahme der diastolischen Funktion. Insgesamt war die kardiale Funktion bei LCR im Alter nicht stärker als bei HCR beeinträchtigt und scheint somit nicht mit der unterschiedlichen Lebensspanne assoziiert zu sein.

Tabelle 5 – Morphologie und Funktion des linken Ventrikels von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beider Geschlechter

	Parameter	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Weibchen	Herzrate [Schläge/min]	387 ± 16	361 ± 16	384 ± 11	344 ± 13	ns	*	ns
	IVSd+LVPWd [mm]	3,01 ± 0,09	3,24 ± 0,22	3,34 ± 0,11	3,17 ± 0,04	ns	ns	ns
	LVPWd [mm]	1,43 ± 0,05	1,53 ± 0,09	1,67 ± 0,09	1,51 ± 0,08	ns	ns	ns
	LVIDd [mm]	6,56 ± 0,16	8,47 ± 0,32***	6,10 ± 0,19	7,88 ± 0,3***	*	***	ns
	E/A	1,62 ± 0,18	2,04 ± 0,5	1,68 ± 0,15	1,64 ± 0,37	ns	ns	ns
	E/E'	14,3 ± 0,9	11,9 ± 1,1	14,5 ± 1,0	14,1 ± 1,6	ns	ns	ns
	FS [%]	42,6 ± 2,5	31,2 ± 3,5*	53,6 ± 2,6#	43,7 ± 2,9*#	***	**	ns
Männchen	Herzrate [Schläge/min]	384 ± 12	361 ± 11	379 ± 8	331 ± 11**	ns	**	ns
	IVSd+LVPWd [mm]	3,21 ± 0,08	3,59 ± 0,13*	3,31 ± 0,07	3,71 ± 0,17*	ns	***	ns
	LVPWd [mm]	1,54 ± 0,05	1,69 ± 0,08	1,62 ± 0,05	1,70 ± 0,07	ns	ns	ns
	LVIDd [mm]	6,98 ± 0,14	8,63 ± 0,36***	6,95 ± 0,14	7,86 ± 0,24**#	ns	***	ns
	E/A	1,76 ± 0,12	2,78 ± 0,51*	1,61 ± 0,13	1,93 ± 0,4	ns	*	ns
	E/E'	15,4 ± 1	12,4 ± 0,9	13,2 ± 1,1	17,1 ± 1,4*#	ns	ns	**
	FS [%]	44,4 ± 1,7	38,9 ± 2,3	44,3 ± 1,8	45,1 ± 2,2	ns	ns	ns

Werte sind als Mittelwert ± SEM angegeben. IVSd – diastolische Septumdicke, LVPWd – diastolische Hinterwanddicke, LVIDd – enddiastolischer Innendurchmesser, E – frühdiastolische maximale Geschwindigkeit, A – spätdiastolische maximale Geschwindigkeit, E' – frühdiastolische Mitralanulusgeschwindigkeit, FS – Verkürzungsfraction, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-15

3.1.4 Morphometrie der Tiere

Alle Tiere wurden zu den gewählten Untersuchungszeitpunkten gewogen und einzelne Organgewichte sowie deren Verhältnisse zur Tibialänge (bezeichnet als relative Gewichte) bestimmt (Abbildung 6 und Tabelle 6). Innerhalb einer Altersgruppe war das Alter zwischen HCR und LCR vergleichbar (Tabelle 6). Die Länge der Tibia wurde als Größenmarker verwendet. Adulte HCR und LCR waren gleich groß und nahmen beide im Alter an Größe zu. Diese Größenzunahme war bei alten LCR stärker. Unabhängig vom Alter waren LCR zudem schwerer (6 A+D). Im Alter nahm das Körpergewicht in beiden Phänotypen zu. Das relative Ventrikelgewicht war bei adulten, männlichen LCR höher als bei HCR (6 B+E). Im Alter nahm das relative Ventrikelgewicht unabhängig vom Phänotyp und Geschlecht zu. Bei weiblichen HCR war die Zunahme stärker als bei LCR. Parallel dazu nahm im Alter das relative Lungengewicht bei HCR stärker zu. Das relative Gewicht des Gastrocnemius war in allen Gruppen vergleichbar (6 C+F). Das Gewicht des Gastrocnemius bezogen auf das Körpergewicht nahm im Alter bei HCR und LCR gleichermaßen ab. Das relative Gewicht des Soleus hingegen nahm bei HCR und weiblichen LCR zu. Weiterhin zeigten adulte, männliche

LCR ein höheres relatives Lebergewicht. Im Alter stieg dieses bei HCR unabhängig vom Geschlecht an, was ein Anzeichen für Wassereinlagerung oder eine sich bildende Fettleber sein kann. Erwartungsgemäß war der relative Fettanteil generell bei LCR höher als bei HCR und nahm im Alter bei beiden Phänotypen zu.

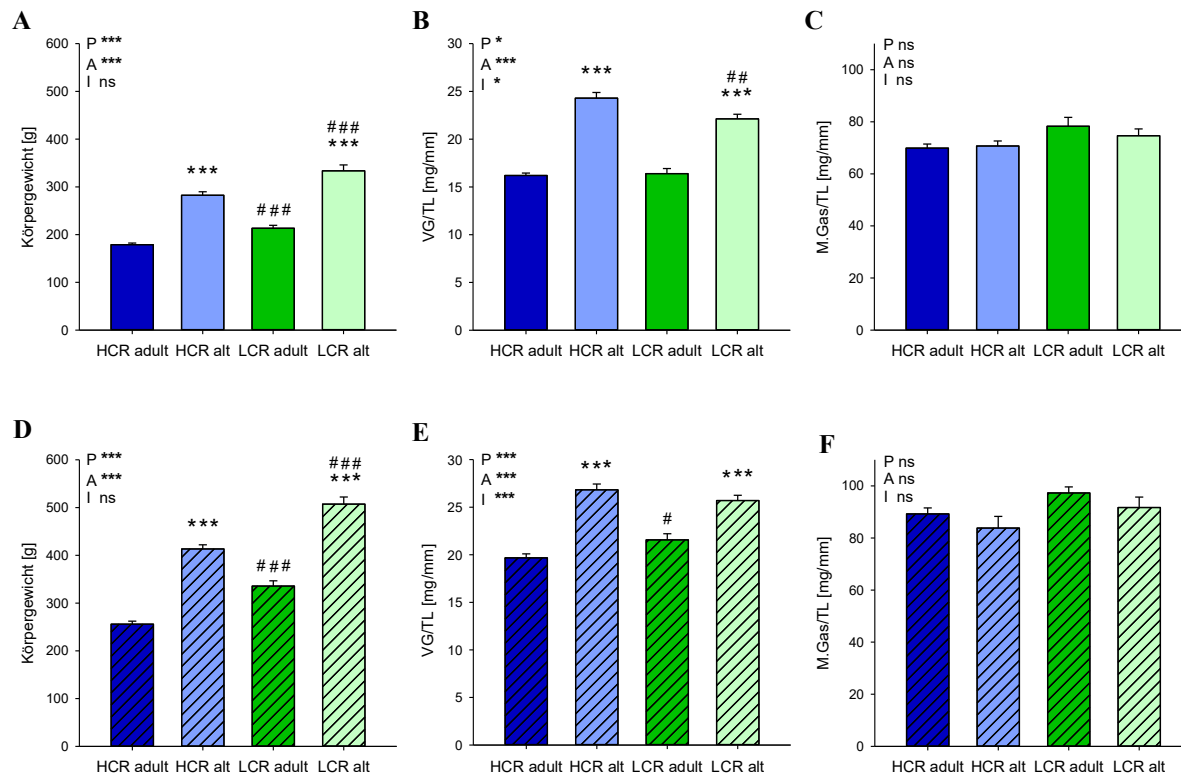


Abbildung 6 – Körpergewicht (A+D), relatives Ventrikelgewicht (B+E) und relatives Gewicht des Gastrocnemius (M. Gas; C+F) bezogen auf die Tibiallänge (TL) von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, VG – Ventrikelgewicht, TL – Tibiallänge, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/### p<0,01; ***/#### p<0,001. n = 7-14

Tabelle 6 – Alter, Tibiallänge und Organgewichte von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beider Geschlechts

	Parameter	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Weibchen	Alter [Wochen]	15 ± 0	104 ± 1***	15 ± 0	106 ± 1***	ns	***	ns
	TL [mm]	34,2 ± 0,4	39,4 ± 0,2***	34,8 ± 0,4	40,8 ± 0,7***#	*	***	ns
	KG/TL [mg/mm]	5,23 ± 0,08	7,34 ± 0,25***	6,14 ± 0,18##	8,18 ± 0,29***#	***	***	ns
	M.Gas/KG	13,4 ± 0,3	9,9 ± 0,2***	12,8 ± 0,5	9,2 ± 0,3***	ns	***	ns
	HG/TL [mg/mm]	17,3 ± 0,3	26,3 ± 0,7***	17,4 ± 0,6	23,5 ± 0,6***##	*	***	*
	LuG/TL [mg/mm]	25,3 ± 0,4	34,5 ± 0,7***	25,9 ± 0,7	30,0 ± 1,2***###	*	***	**
	M.Sol/TL [mg/mm]	4,25 ± 0,20	6,89 ± 0,24***	4,67 ± 0,20	5,80 ± 0,33*##	ns	***	**
	LeG/TL [mg/mm]	182 ± 3	277 ± 15***	211 ± 10	234 ± 13#	ns	***	**
	GFG/TL [mg/mm]	/	100 ± 9	/	209 ± 23***	/	/	/
Männchen	Alter [Wochen]	15,6 ± 0,3	105 ± 1***	15,5 ± 0,6	104 ± 1 ***	ns	***	ns
	TL [mm]	37,1 ± 0,3	43,8 ± 0,3***	38,4 ± 0,6#	45,2 ± 0,3***##	***	***	ns
	KG/TL [mg/mm]	6,90 ± 0,16	9,47 ± 0,16***	8,75 ± 0,24###	11,2 ± 0,3***###	***	***	ns
	M.Gas/KG	13,0 ± 0,3	8,7 ± 0,5***	11,1 ± 0,2##	8,2 ± 0,3***	**	***	ns
	HG/TL [mg/mm]	21,2 ± 0,5	28,8 ± 0,8***	22,9 ± 0,7	27,5 ± 0,6***	ns	***	*
	LuG/TL [mg/mm]	27,7 ± 0,8	35,0 ± 1,3***	29,2 ± 1,5	32,6 ± 1,4	ns	***	ns
	M.Sol/TL [mg/mm]	6,41 ± 0,35	8,28 ± 0,24**	7,28 ± 0,14	7,32 ± 0,51	ns	*	*
	LeG/TL [mg/mm]	241 ± 7	316 ± 14***	294 ± 11##	314 ± 10	*	***	*
	GFG/TL [mg/mm]	55,3 ± 4,2	140 ± 12***	93,6 ± 10,9	221 ± 19***###	***	***	ns

Werte sind als Mittelwert ± SEM angegeben. TL – Tibiallänge, KG – Körpergewicht, M.Gas – Gastrocnemius, HG – Herzgewicht, LuG – Lungengewicht, M.Sol – Soleus, LeG – Lebergewicht, GFG – Gonadenfettgewicht, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 7-14

3.1.5 Mitochondriale Funktion

Der Proteingehalt isolierter Mitochondrien aus dem Herzen, Skelettmuskel (im Folgenden auch als Gastrocnemius bezeichnet) sowie der Leber war zwischen HCR und LCR in allen Gruppen vergleichbar (Tabelle 12 Anhang). Im Alter nahm der mitochondriale Proteingehalt zu. Eine Ausnahme bilden die IFM des Gastrocnemius männlicher Tiere, die im Alter unverändert blieben. Somit scheint sich im Alter die Zusammensetzung der Mitochondrien zu ändern.

3.1.5.1 Citratsynthaseaktivität

In Abbildung 7 ist die Citratsynthaseaktivität im Homogenat des Herzens, der Skelettmuskulatur und der Leber dargestellt. Die Citratsynthaseaktivität isolierter Mitochondrien bezogen auf den mitochondrialen Proteingehalt, nahm im Alter ab (Tabelle 13 Anhang). Adulte, weibliche LCR zeigten im Homogenat aller Organe eine niedrigere Aktivität der Citratsynthase als HCR, was ein Zeichen für eine geringere Mitochondrienmenge ist. Im Alter nahm bei Weibchen die Mitochondrienmenge im Herzen bei HCR stärker als bei LCR ab. Die Mitochondrienmenge im Skelettmuskel blieb bei alten LCR erhalten, während sie bei HCR abnahm. In der Leber hingegen stieg im Alter die Mitochondrienmenge bei weiblichen LCR. Bei Männchen war die Citratsynthaseaktivität der adulten LCR nur im Skelettmuskel geringer als bei HCR. Im Alter nahm bei Männchen die Citratsynthaseaktivität unabhängig vom Organ und Phänotyp deutlich ab. Dabei zeigten alte, männliche LCR im Skelettmuskel eine geringere Citratsynthaseaktivität als alte HCR. Generell war im Alter bei Männchen ein stärkerer Verlust der Mitochondrienmenge als bei Weibchen zu beobachten. Der zudem stärkere Verlust der muskulären Mitochondrienmenge der alten LCR im Vergleich zu alten HCR deutet bei Männchen auf einen Zusammenhang mit der unterschiedlichen Lebensspanne hin.

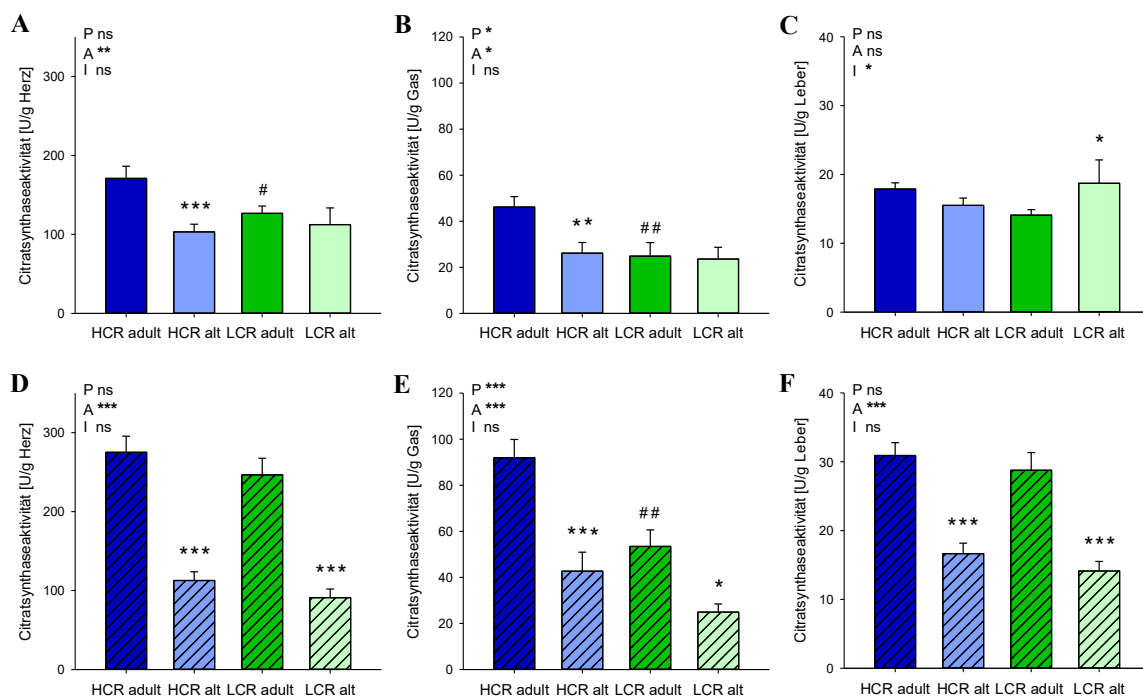


Abbildung 7 – Citratsynthaseaktivität der Gewebehomogenate des Herzens (A+D), des Skelettmuskels (B+E) und der Leber (C+F) von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). Gas – Gastrocnemius, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/### p<0,01; ***/### p<0,001. n = 8-14

3.1.5.2 Morphologie isolierter Mitochondrien

In Abbildung 8 sind die relative Größe (Vorwärtsstreulicht – VS) und die relative Komplexität (Seitenstreulicht – SS) der IFM des Herzens, des Skelettmuskels und der Mitochondrien der Leber dargestellt. Die Daten zu den SSM des Herzens und der Skelettmuskulatur sowie die zugehörige Statistik befinden sich im Anhang (Tabelle 14). Bei adulten Weibchen waren die Größe und Komplexität der Mitochondrien zwischen HCR und LCR in allen Organen vergleichbar. Im Alter wurden bei weiblichen LCR die IFM des Herzens und die Mitochondrien der Leber tendenziell komplexer. In der Leber wurden sie zusätzlich größer. Alte, weibliche HCR hingegen zeigten tendenziell größere und weniger komplexe IFM des Skelettmuskels. Dies deutet darauf hin, dass sich im Alter zwischen weiblichen HCR und LCR Unterschiede in der Morphologie entwickelten. Adulte, männliche LCR zeigten im Vergleich zu HCR größere Mitochondrien des Herzens sowie der Leber. Die Mitochondrien der Skelettmuskulatur waren bei adulten, männlichen LCR komplexer als bei HCR. Im Alter wurden die Mitochondrien des Herzens und der Leber unabhängig vom Phänotyp komplexer. Zudem nahm im Alter bei LCR die Größe der Mitochondrien aller untersuchten Organe ab. Somit war bei adulten Männchen, im Vergleich zu Weibchen, die Morphologie der Mitochondrien zwischen HCR und LCR verschieden und glich sich im Alter an.

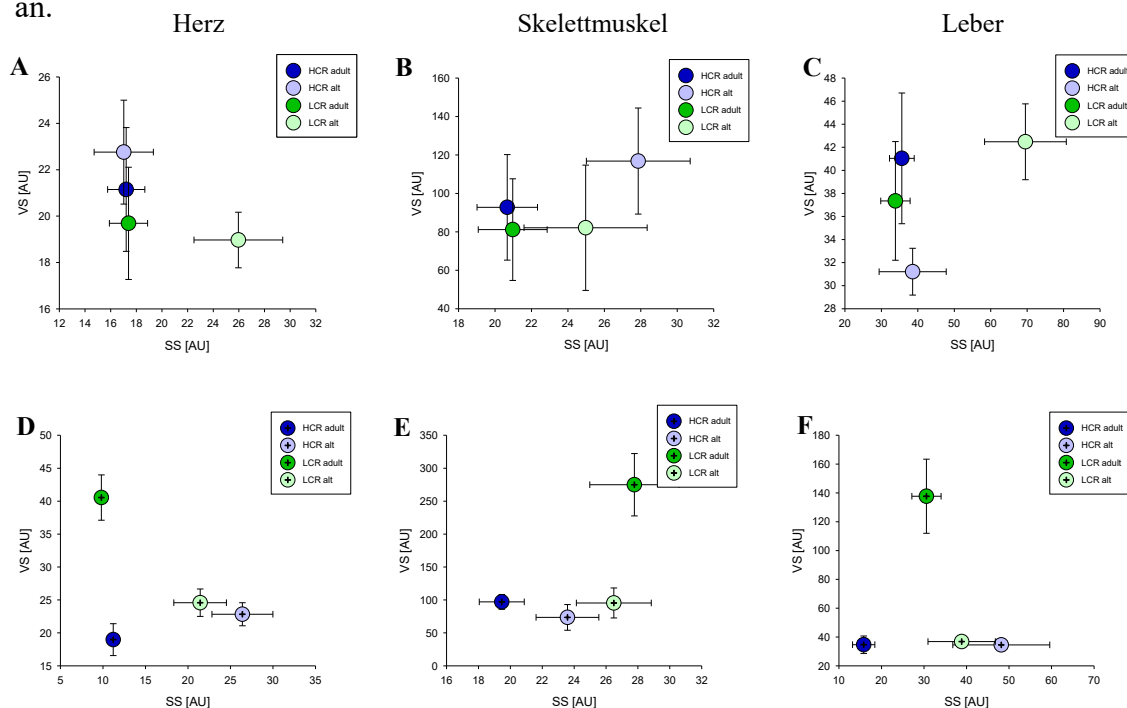


Abbildung 8 – Größe und Komplexität der interfibrillären Mitochondrien des Herzens (A+D), des Skelettmuskels (B+E) und der Mitochondrien der Leber (C+F) von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Kreise) und Männchen (Kreise mit Kreuz). VS – Vorwärtsstreulicht, SS – Seitenstreulicht, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 6-21

3.1.5.3 Respiratorische Kapazität

Maximale respiratorische Kapazität isolierter Mitochondrien

In Abbildung 9 ist die maximale respiratorische Kapazität der IFM des Herzens dargestellt. Die Ergebnisse mit weiteren Substraten befinden sich in Tabelle 15 (Anhang). Die maximale respiratorische Kapazität war bei adulten, weiblichen HCR und LCR vergleichbar. Bei adulten Männchen war nur mit Palmitoylcarnitin eine niedrigere respiratorische Kapazität der LCR im Vergleich zu HCR zu beobachten. Im Alter sank bei weiblichen HCR und LCR – mit Ausnahme von Pyruvat – die maximale respiratorische Kapazität gleichermaßen. Dabei war die stärkste Abnahme mit Fettsäuresubstraten zu beobachten. Bei männlichen HCR und LCR sank im Alter die maximale respiratorische Kapazität mit Pyruvat und Succinat und blieb mit den restlichen Substraten unverändert. Abbildung 10 und Tabelle 15 (Anhang) stellen die maximale respiratorische Kapazität der SSM des Herzens dar. Adulte, weibliche LCR zeigten mit Succinat eine höhere maximale respiratorische Kapazität als HCR. Mit weiteren Substraten wie auch bei Männchen unterschied sich die maximale respiratorische Kapazität zwischen adulten HCR und LCR nicht. Dies deutet auf eine erhöhte Komplex II Aktivität bei Weibchen hin. Im Alter nahm bei Weibchen die maximale respiratorische Kapazität der HCR und LCR auf ein vergleichbares Niveau ab. Nur mit TMPD zeigten alte, weibliche LCR eine niedrigere maximale respiratorische Kapazität als alte HCR. Bei männlichen HCR und LCR nahm im Alter die maximale respiratorische Kapazität mit Glutamat zu und blieb mit weiteren Substraten unverändert. Insgesamt zeigte sich im Alter bei IFM und SSM ein vergleichbares Muster. Die Abnahme der Funktion der kardialen Mitochondrien war bei Weibchen stärker als bei Männchen. Unerwartet zeigten sich keine Unterschiede zwischen HCR und LCR, die mit den Unterschieden in der Lebensspanne zusammenhängen könnten.

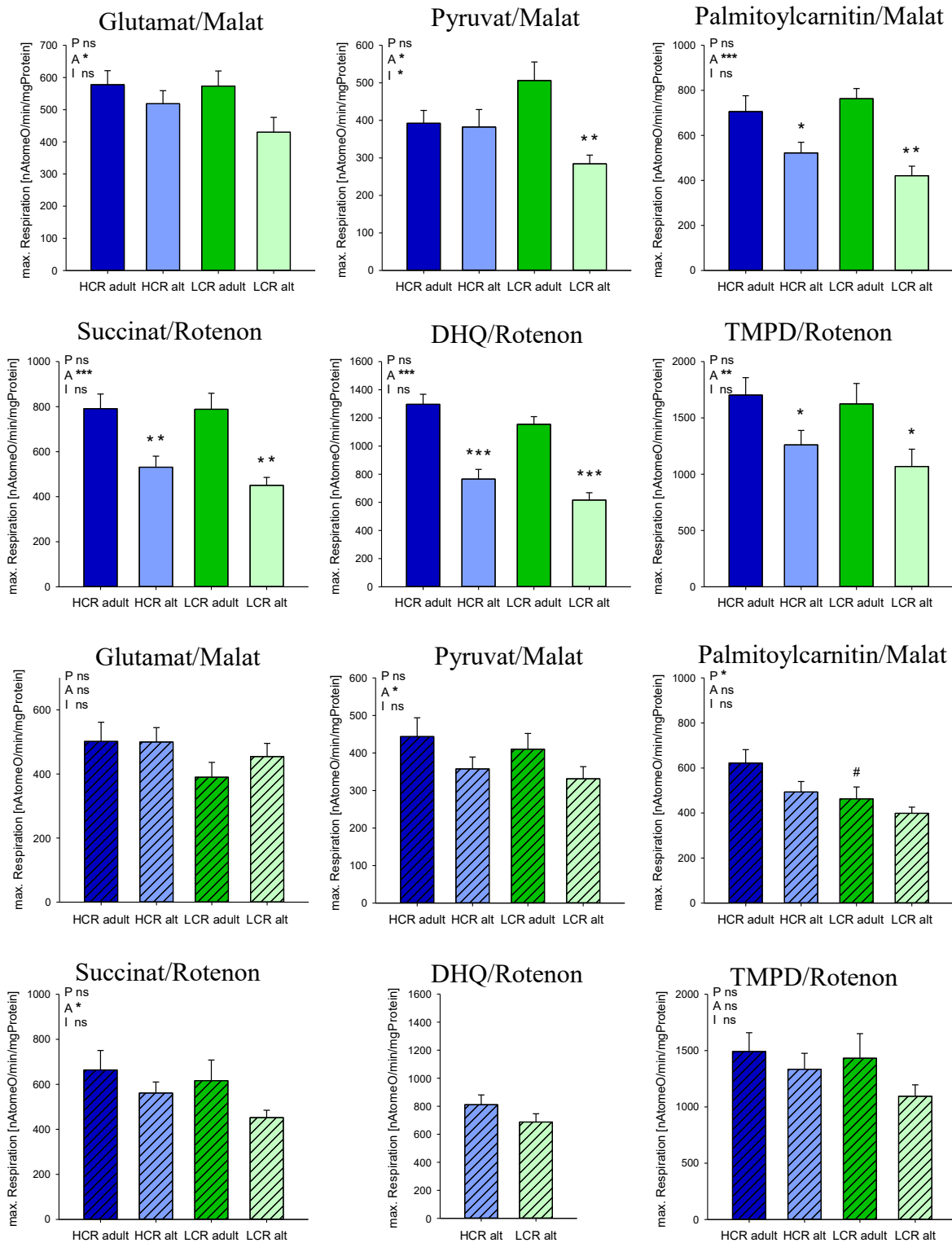


Abbildung 9 – Maximale Respiration der interfibrillären Mitochondrien des Herzens von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken) in der Gegenwart verschiedener Substrate. max. – maximale, DHQ – Duroquinol, TMPD – Tetramethylphenylendiamin, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-14

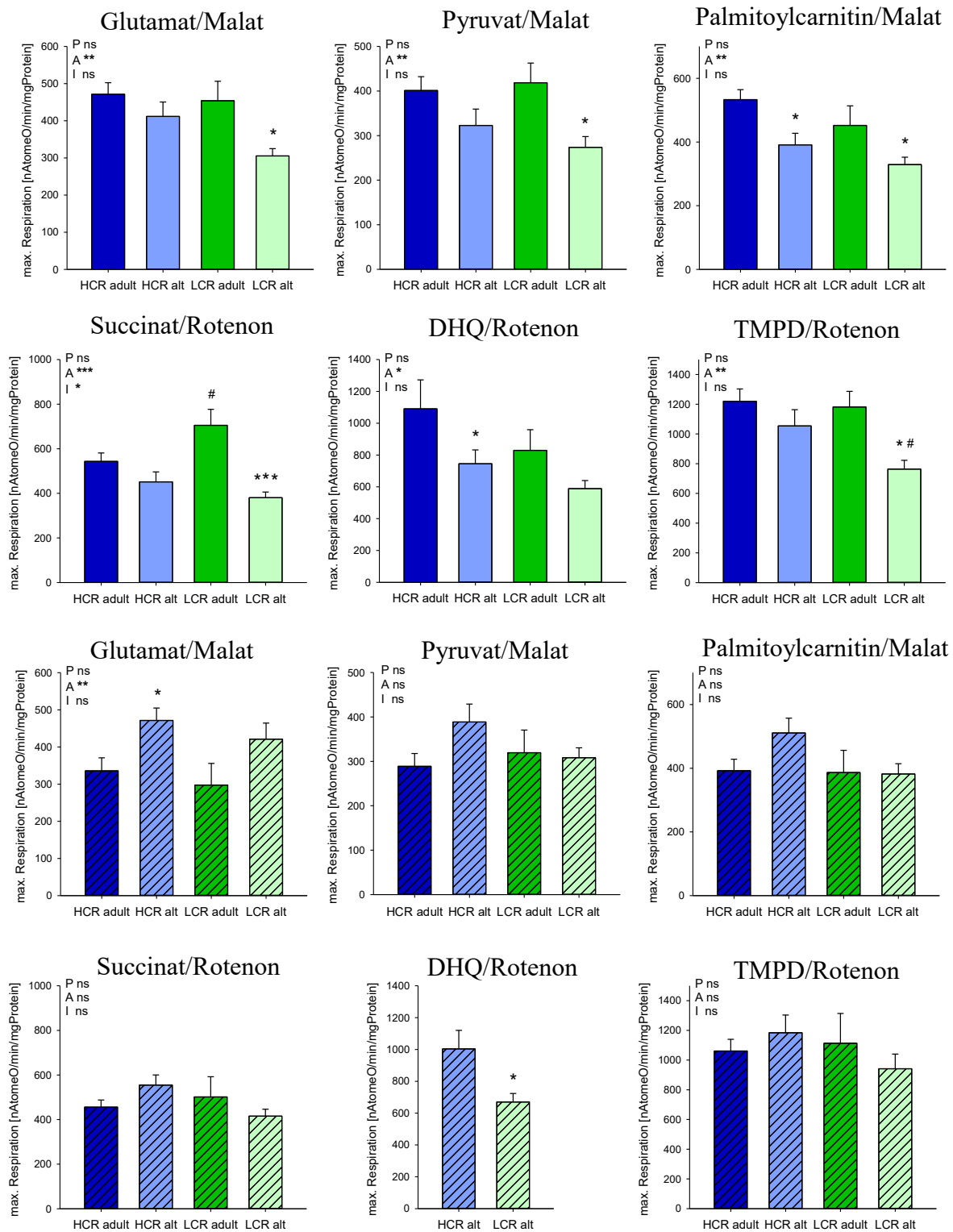


Abbildung 10 – Maximale Respiration der subsarkolemmalen Mitochondrien des Herzens von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken) in der Gegenwart verschiedener Substrate. max. – maximale, DHQ – Duroquinol, TMPD – Tetramethylphenyldiamin, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * –versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# $p < 0,05$; **/## $p < 0,01$; ***/### $p < 0,001$. $n = 5-14$

In Abbildung 11 und Tabelle 16 (Anhang) ist die maximale respiratorische Kapazität der IFM des Gastrocnemius dargestellt. Adulte LCR zeigten unabhängig vom Geschlecht eine geringere respiratorische Kapazität als HCR. Im Alter nahm die maximale respiratorische Kapazität in beiden Phänotypen und unabhängig vom Geschlecht ab. Alte LCR zeigten einheitlich eine geringere maximale respiratorische Kapazität als alte HCR. Die Unterschiede zwischen den Phänotypen wurden im Alter verstärkt. Die maximale respiratorische Kapazität der SSM des Gastrocnemius sind in Abbildung 12 und Tabelle 16 (Anhang) dargestellt. Adulte HCR und LCR zeigten unabhängig vom Geschlecht eine vergleichbare maximale respiratorische Kapazität der SSM. Nur mit Glutamat und TMPD war die maximale respiratorische Kapazität bei weiblichen, adulten LCR niedriger als bei HCR. Im Alter sank bei weiblichen HCR und LCR die maximale respiratorische Kapazität mit allen Substraten. Alte, weibliche LCR zeigten tendenziell eine niedrigere respiratorische Kapazität als alte HCR. Bei Männchen sank im Alter die maximale respiratorische Kapazität der LCR mit Komplex II, III und IV Substraten. Insgesamt war die Abnahme der respiratorischen Kapazität der muskulären IFM im Alter – besonders bei Männchen – stärker. Die stärkere Beeinträchtigung der muskulären Mitochondrien bei LCR scheint mit deren kürzeren Lebensspanne assoziiert zu sein.

In Tabelle 7 ist die maximale respiratorische Kapazität der Mitochondrien der Leber dargestellt. Bei Weibchen unterschied sich die maximale respiratorische Kapazität zwischen adulten HCR und LCR nicht. Männliche, adulte LCR zeigten mit Pyruvat, Palmitoylcarnitin und TMPD eine niedrigere respiratorische Kapazität als HCR. Im Alter sank bei Weibchen mit allen Substraten die maximale respiratorische Kapazität der HCR und LCR. Alte, weibliche LCR zeigten mit Pyruvat und Succinat eine niedrigere maximale respiratorische Kapazität als alte HCR. Bei Männchen sank im Alter die maximale respiratorische Kapazität mit Glutamat (+Malat), Palmitoylcarnitin, Succinat und TMPD. In der Gesamtheit war die Abnahme der mitochondrialen Funktion der Leber im Alter bei Weibchen stärker, unterschied sich aber nicht wesentlich zwischen HCR und LCR.

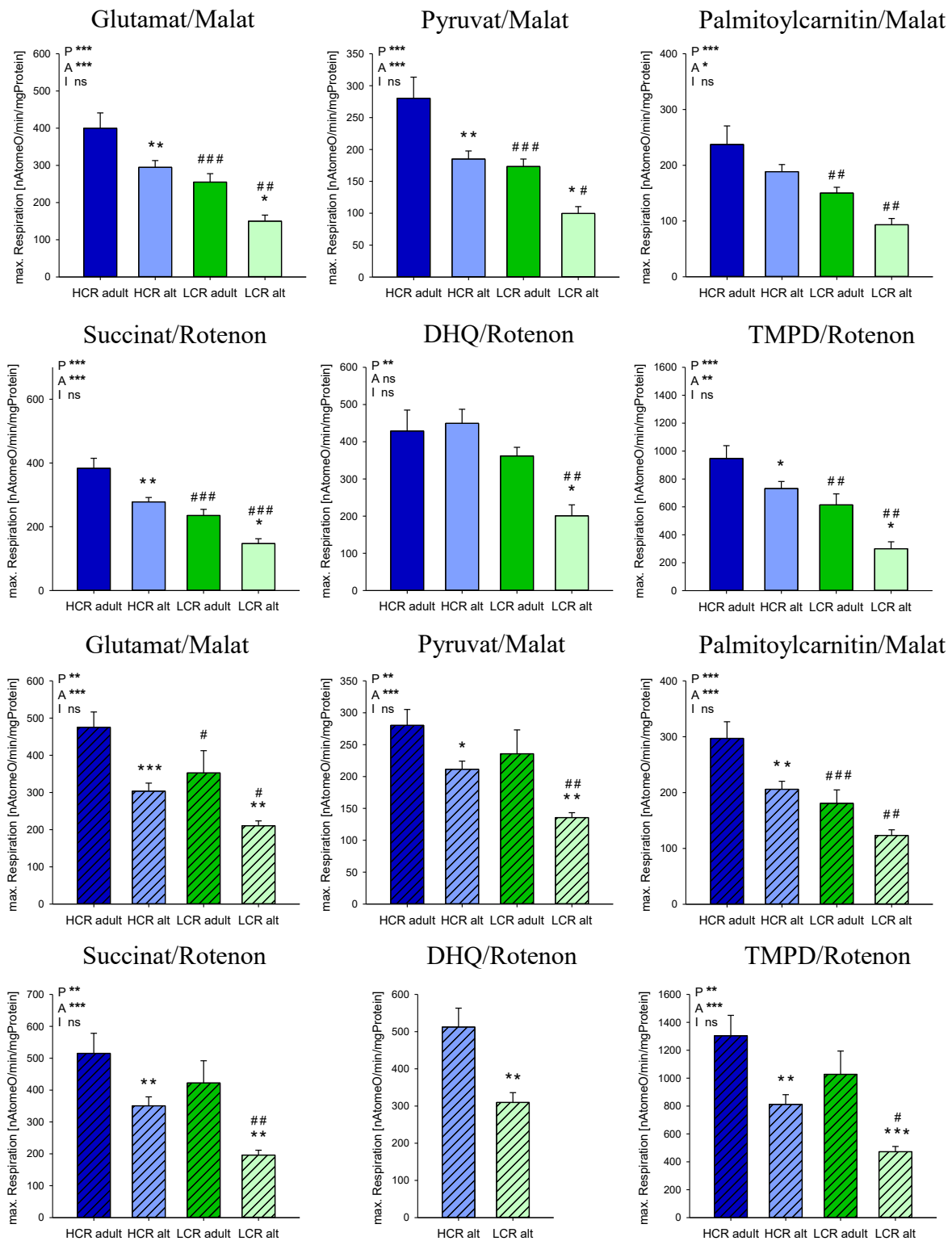


Abbildung 11 – Maximale Respiration der interfibrillären Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken) in der Gegenwart verschiedener Substrate. max. – maximale, DHQ – Duroquinol, TMPD – Tetramethylphenyldiamin, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# $p < 0,05$; **/### $p < 0,01$; ***/### $p < 0,001$. n = 4-13

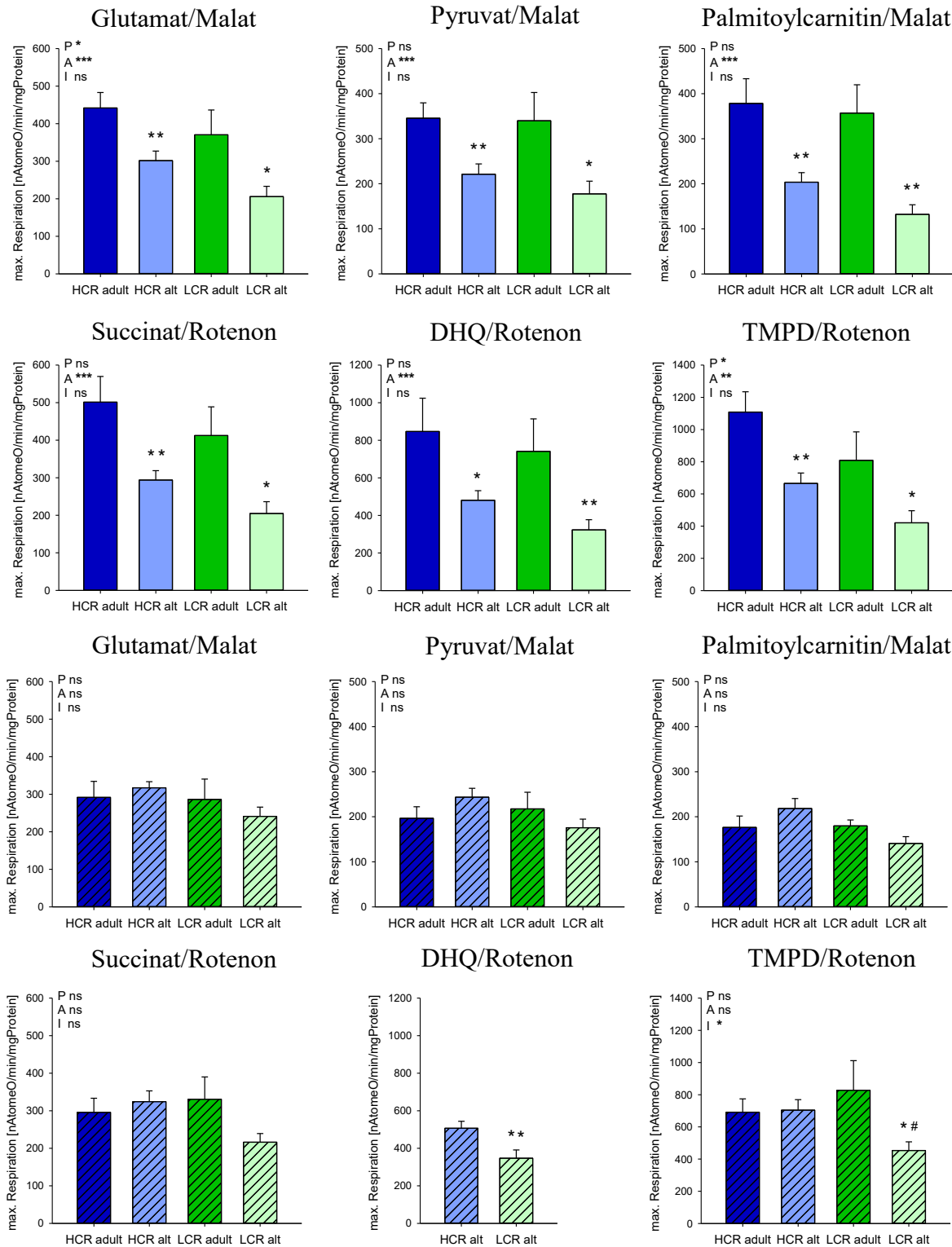


Abbildung 12 – Maximale Respiration der subsarkolemmalen Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken) in der Gegenwart verschiedener Substrate. max. – maximale, DHQ – Duroquinol, TMPD – Tetramethylphenylendiamin, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 5-14

Tabelle 7 – Maximale Respiration der Mitochondrien der Leber von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beider Geschlechter in der Gegenwart verschiedener Substrate

	Substrat	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Leber Mitos Weibchen	Glu	181 ± 14	154 ± 11	183 ± 8	132 ± 7*	ns	**	ns
	Glu/Mal	248 ± 11	196 ± 15*	237 ± 28	141 ± 8**	ns	***	ns
	Pyr/Mal	63,3 ± 4,4	56,9 ± 4,3	65,1 ± 4,0	40,4 ± 2,7***#	ns	**	ns
	Pc/Mal	227 ± 8	146 ± 12***	198 ± 21	108 ± 6***	*	***	ns
	PCoA/Car/Mal	171 ± 21	132 ± 10*	184 ± 8	104 ± 7**	ns	***	ns
	Succ/Rot	287 ± 16	203 ± 15**	286 ± 26	152 ± 9***#	ns	***	ns
	DHQ/Rot	298 ± 31	209 ± 18**	290 ± 20	169 ± 7**	ns	***	ns
	TMPD/Rot	569 ± 42	417 ± 44*	538 ± 54	336 ± 26*	ns	***	ns
Leber Mitos Männchen	Glu	147 ± 9	127 ± 8	128 ± 17	116 ± 11	ns	ns	ns
	Glu/Mal	199 ± 13	153 ± 9*	175 ± 25	147 ± 12	ns	*	ns
	Pyr/Mal	72,3 ± 5,5	60,0 ± 4,3	47,1 ± 5,7##	47,3 ± 4,9	***	ns	ns
	Pc/Mal	192 ± 12	124 ± 9***	150 ± 17#	109 ± 11*	*	***	ns
	PCoA/Car/Mal	/	109 ± 8	/	95 ± 9	/	/	/
	Succ/Rot	269 ± 24	174 ± 11***	226 ± 27	144 ± 14**	ns	***	ns
	DHQ/Rot	/	181 ± 12	/	155 ± 15	/	/	/
	TMPD/Rot	499 ± 38	398 ± 37	396 ± 51	321 ± 37	*	*	ns

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nAtomeO/min/mg Protein] angegeben. Mitos – Mitochondrien, Glu – Glutamat, Mal – Malat, Pyr – Pyruvat, Pc – Palmitoylcarnitin, PCoA/Car – Palmitoylcoenzym A/Carnitin, Succ – Succinat, Rot – Rotenon, DHQ – Duroquinol, TMPD – Tetramethylphenylendiamin, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 6-14

Basale respiratorische Kapazität

Die basale respiratorische Kapazität läuft unter ADP-limitierten Bedingungen ab. Für Weibchen sind die Werte in Tabelle 17 (Anhang) und für Männchen in Tabelle 18 (Anhang) mit verschiedenen Substraten dargestellt. Bei Weibchen waren phänotypische Unterschiede nur im Gastrocnemius zu beobachten. LCR zeigten dabei eine niedriger basale respiratorische Kapazität als HCR. Im Alter nahm bei weiblichen HCR und LCR die basale respiratorische Kapazität der SSM des Gastrocnemius ab. Auch im Herzen war im Alter bei Weibchen eine Abnahme der basalen respiratorischen Kapazität mit einzelnen Substraten zu beobachten. Bei Männchen zeigten sich im Herzen und Gastrocnemius keine wesentlichen phänotypischen Unterschiede zwischen HCR und LCR. In der Leber war die basale respiratorische Kapazität bei adulten, männlichen LCR tendenziell geringer als bei adulten HCR. Im Alter traten bei Männchen die deutlichsten Effekte bei den IFM des Gastrocnemius auf. Dabei nahm bei männlichen HCR und LCR die basale respiratorische Kapazität mit Pyruvat, Palmitoylcarnitin und Succinat ab. Insgesamt deutet die Abnahme der basalen respiratorischen Kapazität im

Skelettmuskel parallel zur Abnahme der maximalen respiratorischen Kapazität auf eine aufrechterhaltene Kopplung der Mitochondrien im Alter hin.

ADP/O Verhältnis

Die ADP/O Verhältnisse für Weibchen sind in Tabelle 19 (Anhang) und für Männchen in Tabelle 20 (Anhang) dargestellt. Adulte, weibliche LCR zeigten bei den SSM des Gastrocnemius mit einzelnen Substraten niedrigere ADP/O Verhältnisse im Vergleich zu HCR. Dies ist ein Zeichen für eine geringere Effizienz der ATP-Produktion bei LCR. Im Alter nahm bei weiblichen HCR und LCR das ADP/O Verhältnis der SSM des Gastrocnemius ab. Zudem zeigten alte, weibliche LCR tendenziell niedrigere ADP/O Verhältnisse als HCR. Ein weiterer Befund war in den kardialen Mitochondrien der Weibchen zu beobachten. Im Alter nahm das ADP/O Verhältnis mit Succinat und DHQ in beiden Phänotypen zu. Im Gegensatz dazu waren bei Männchen deutliche Effekte nur in der Leber zu beobachten. Phänotypisch gab es keine Unterschiede, doch im Alter nahm das ADP/O Verhältnis der Lebermitochondrien in HCR und LCR – mit Ausnahme von Succinat – in gleichem Maße ab. Während bei Männchen somit im Alter die Effizienz der ATP-Produktion im Herzen und Skelettmuskel erhalten blieb, war bei Weibchen im Skelettmuskel eine Verringerung der Effizienz zu beobachten.

3.1.5.4 Mitochondriale ROS-Produktion

Abbildung 13 zeigt die ROS-Produktion der IFM und SSM des Herzens. Bei adulten, weiblichen LCR war die basale ROS-Produktion der SSM höher als bei HCR. Ansonsten waren adulte, weibliche HCR und LCR nicht weiter verschieden. Im Alter nahmen bei weiblichen Tieren die basale ROS-Produktion sowie die maximale ROS-Produktion an Komplex I – unabhängig vom Phänotyp und der Mitochondrienpopulation – auf ein vergleichbares Niveau ab. Männliche, adulte LCR zeigten eine höhere maximale ROS-Produktion an Komplex III der IFM sowie eine höhere basale ROS-Produktion der SSM im Vergleich zu HCR. Im Alter nahm bei männlichen HCR – unabhängig von der Messbedingung oder der Mitochondrienpopulation – die ROS-Produktion stärker als bei LCR ab. Unerwartet war somit im Herzen bei HCR und LCR die mitochondriale ROS-Produktion im Alter vermindert.

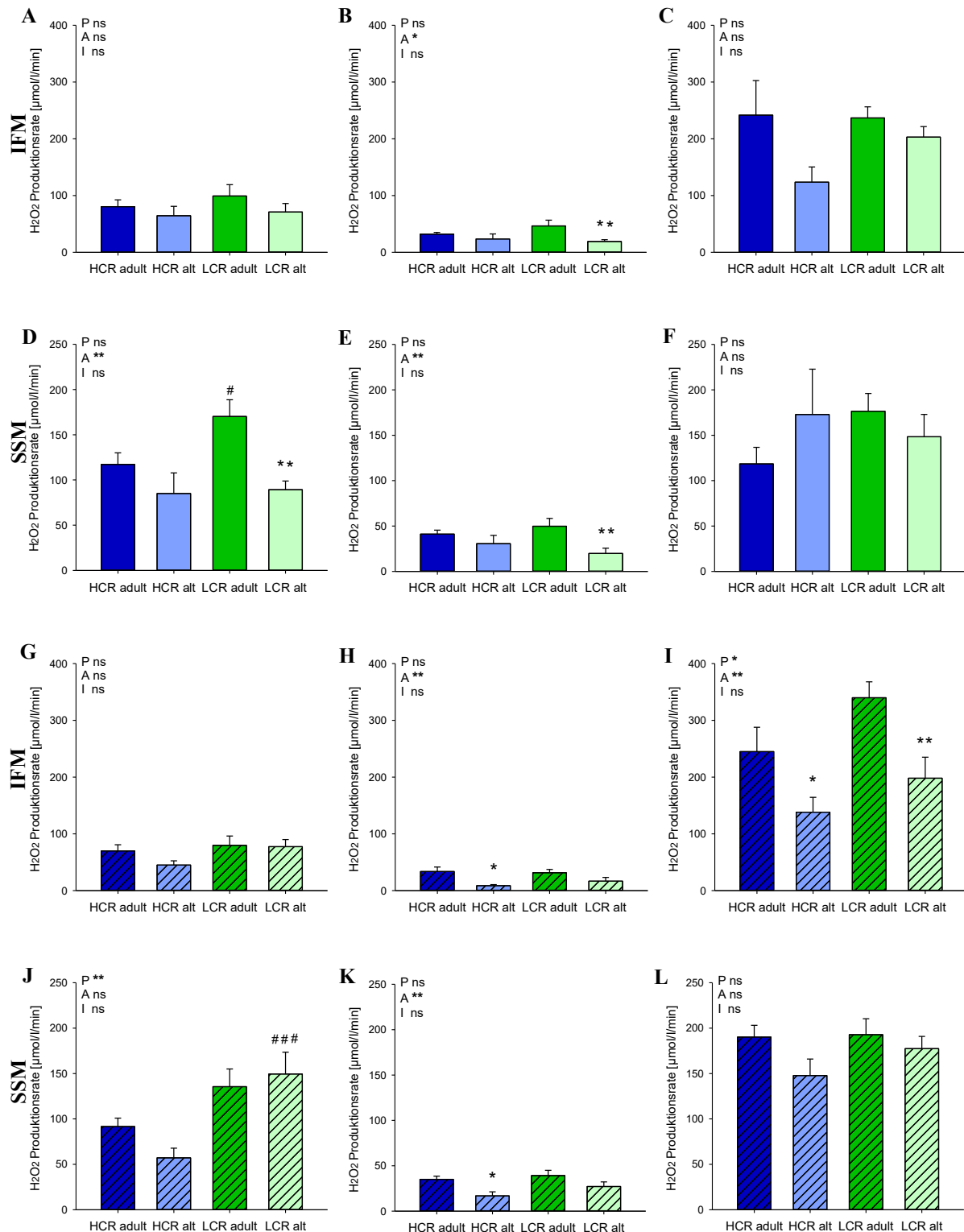


Abbildung 14 zeigt die ROS-Produktion der IFM und SSM des Gastrocnemius. Adulte, weibliche LCR zeigten eine niedrigere maximale ROS-Produktion an Komplex III als HCR. Im Alter sank zudem die maximale ROS-Produktion an Komplex III bei beiden Phänotypen. Adulte, männliche LCR zeigten eine tendenziell niedrigere ROS-Produktion der IFM als HCR. Im Alter sank bei männlichen HCR die basale ROS-Produktion der IFM. Zusätzlich sank im Alter bei HCR und LCR die maximale ROS-Produktion an Komplex III der SSM auf ein vergleichbares Niveau. Insgesamt nahm unerwartet im Alter die ROS-Produktion im Skelettmuskel bei HCR und LCR ab.

In Abbildung 15 ist die ROS-Produktion der Mitochondrien der Leber dargestellt. Die basale ROS-Produktion der LCR war bei adulten Männchen und tendenziell bei adulten Weibchen höher als bei HCR. Im Alter war unabhängig vom Geschlecht eine Abnahme der ROS-Produktion bei HCR und LCR zu beobachten. Alte, männliche LCR zeigten eine höhere ROS-Produktion als alte HCR. Generell war bei Männchen im Vergleich zu Weibchen die Abnahme der ROS-Produktion im Alter stärker.

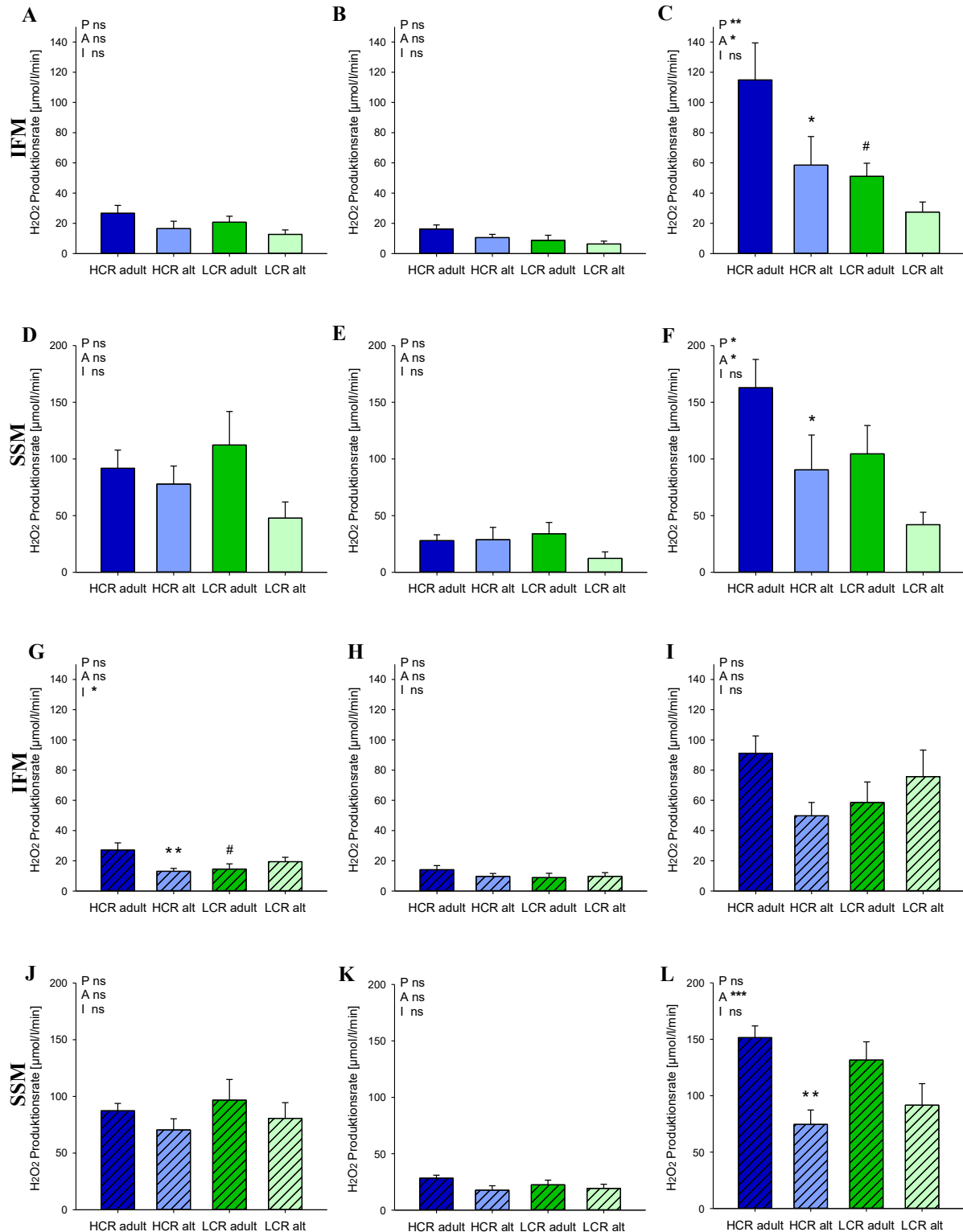


Abbildung 14 – ROS-Produktion isolierter Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). Die basale ROS-Produktion an Komplex I und III wurde mit dem Substrat Glutamat in IFM (A+G) und SSM (D+J), die maximale ROS-Produktion an Komplex I wurde mit Glutamat und dem Hemmstoff Rotenon in IFM (B+H) und SSM (E+K) und die maximale ROS-Produktion an Komplex III wurde mit dem Substrat Succinat, mit Rotenon und dem Hemmstoff Antimycin A in IFM (C+I) und SSM (F+L) bestimmt. P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-11

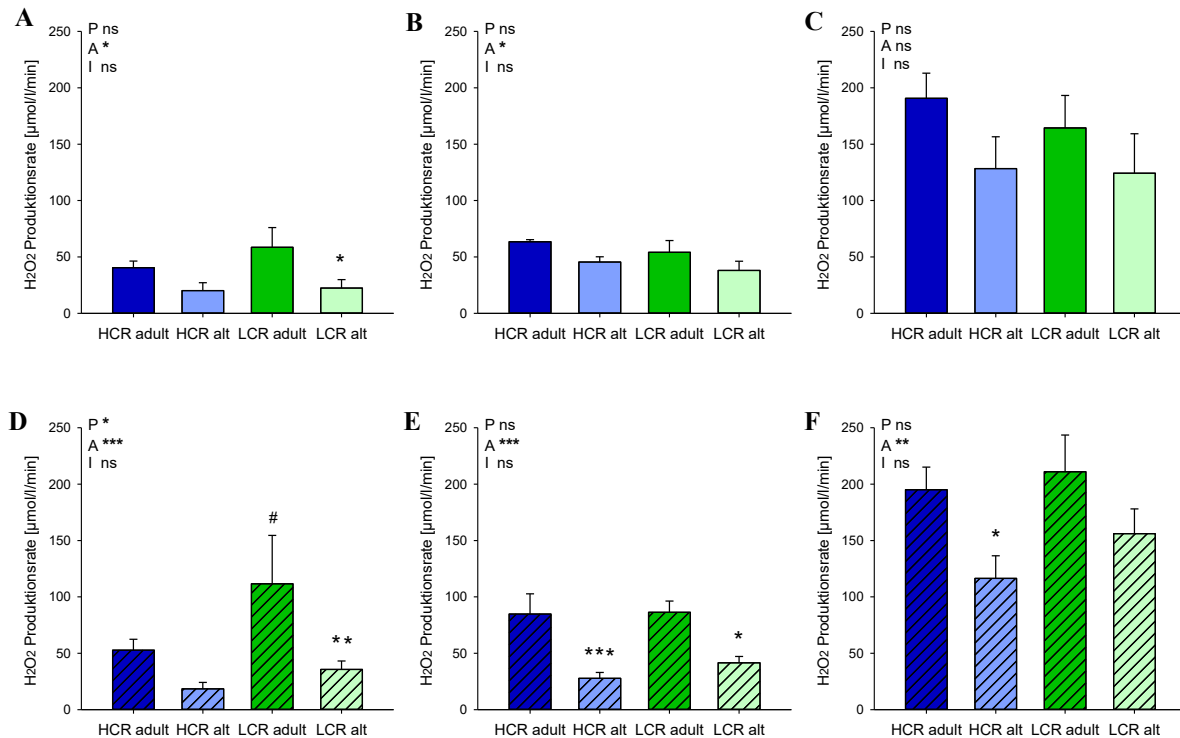


Abbildung 15 – ROS-Produktion isolierter Mitochondrien der Leber von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). Die basale ROS-Produktion an Komplex I und III wurde mit dem Substrat Glutamat (A+D), die maximale ROS-Produktion an Komplex I wurde mit Glutamat und dem Hemmstoff Rotenon (B+E) und die maximale ROS-Produktion an Komplex III wurde mit dem Substrat Succinat, mit Rotenon und dem Hemmstoff Antimycin A (C+F) bestimmt. P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/### p<0,01; ***/#### p<0,001. n = 4-11

3.1.5.5 Calciumsensitivität

In Abbildung 16 ist das Calcium-induzierte Anschwellen der Mitochondrienpopulationen des Herzens, des Gastrocnemius und der Leber abgebildet. Im Herzen war zwischen adulten HCR und LCR die Stärke des Anschwellens der Mitochondrien vergleichbar. Im Alter nahm nur bei weiblichen LCR die Schwellung der IFM des Herzens zu. Dies spricht für eine höhere Calciumsensitivität der MPTP. Im Gastrocnemius war bei LCR unabhängig vom Geschlecht das Anschwellen der IFM niedriger als bei HCR. Im Alter nahm das Anschwellen der muskulären Mitochondrien bei HCR und LCR ab. Bei Männchen war diese Abnahme im Alter bei LCR stärker als bei HCR. In der Leber war die Schwellung der Mitochondrien bei LCR höher und veränderte sich im Alter nicht weiter. Im Alter war die Calciumsensitivität der MPTP somit vornehmlich im Skelettmuskel vermindert.

Die Geschwindigkeit des Calcium-induzierten Anschwellens der Mitochondrien, während einer definierten Zeitspanne, ist in Tabelle 21 (Anhang) dargestellt. Deutliche Effekte waren nur im Gastrocnemius zu beobachten. Bei adulten, weiblichen LCR war unabhängig vom

Alter die Geschwindigkeit des Anschwellens der IFM des Gastrocnemius geringer als bei HCR. Im Alter nahm bei LCR unabhängig vom Geschlecht die Geschwindigkeit des Anschwellens der SSM des Gastrocnemius stärker als bei HCR ab und spricht für eine geringere Calciumsensitivität der MPTP.

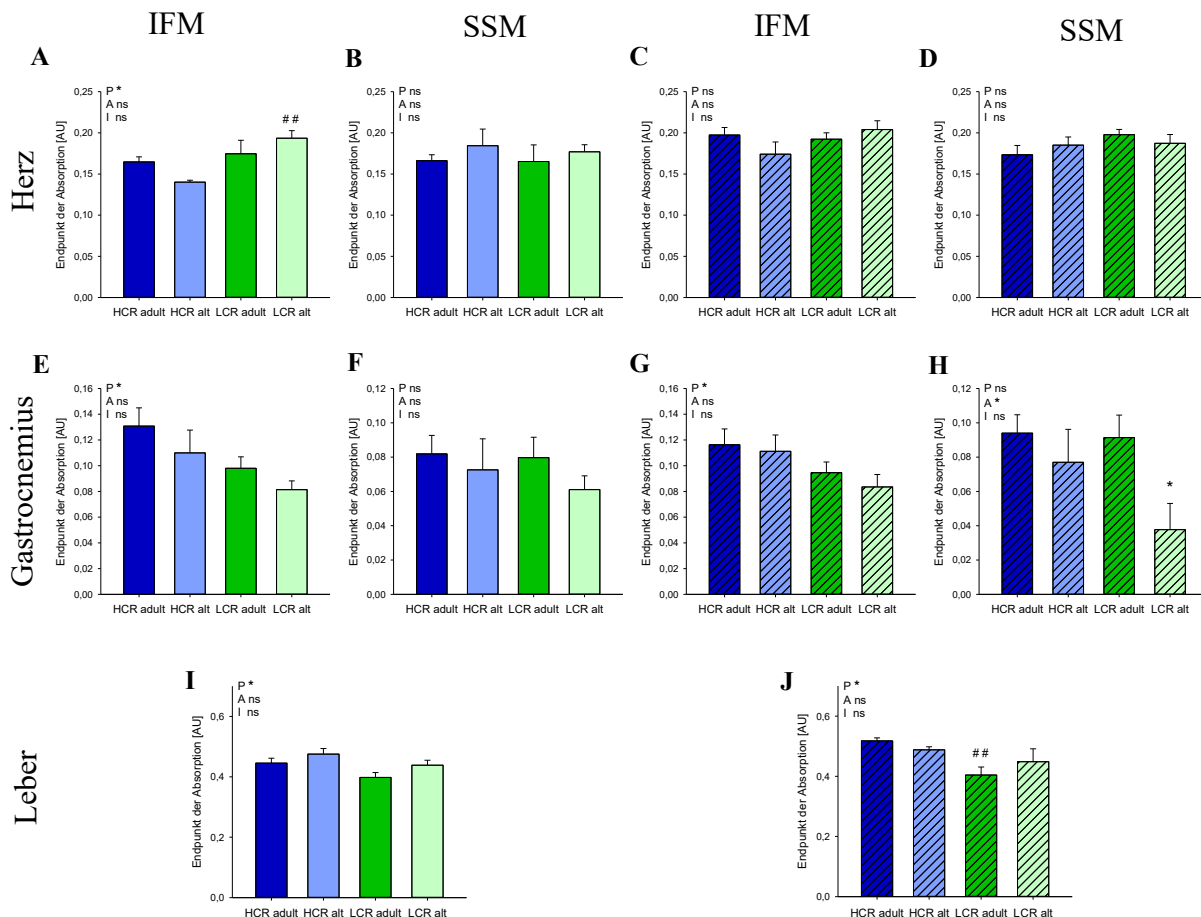


Abbildung 16 – Calcium-induziertes Anschwellen der interfibrillären (IFM) und subsarkolemmalen (SSM) Mitochondrien des Herzens (A-D), des Skelettmuskels (E-H) und der Mitochondrien der Leber (I+J) von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). Für das Anschwellen wurde die Abnahme (Endpunkt) der Absorption bestimmt. P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# $p < 0,05$; **/## $p < 0,01$; ***/### $p < 0,001$. $n = 4-9$

3.1.6 Aktivität antioxidativer Enzyme im Gewebe

In Abbildung 17 ist die Aktivität antioxidativer Enzyme des Herzens abgebildet. Bei Weibchen zeigten LCR eine höhere SOD Aktivität sowie eine tendenziell niedrigere GPx Aktivität. Im Alter nahm die Aktivität der Katalase zu. Dieser Effekt war stärker bei alten, weiblichen LCR als bei HCR. Bei Männchen waren keine signifikanten Unterschiede vorhanden. Der Trend ging, unabhängig vom Alter, zu höheren Enzymaktivitäten der LCR im Vergleich zu HCR. Zudem war eine tendenzielle Abnahme der Aktivität der Katalase im

Alter zu beobachten. Während somit die kardiale, antioxidative Kapazität unabhängig vom Phänotyp bei Weibchen im Alter erhöht war, blieb sie bei Männchen erhalten.

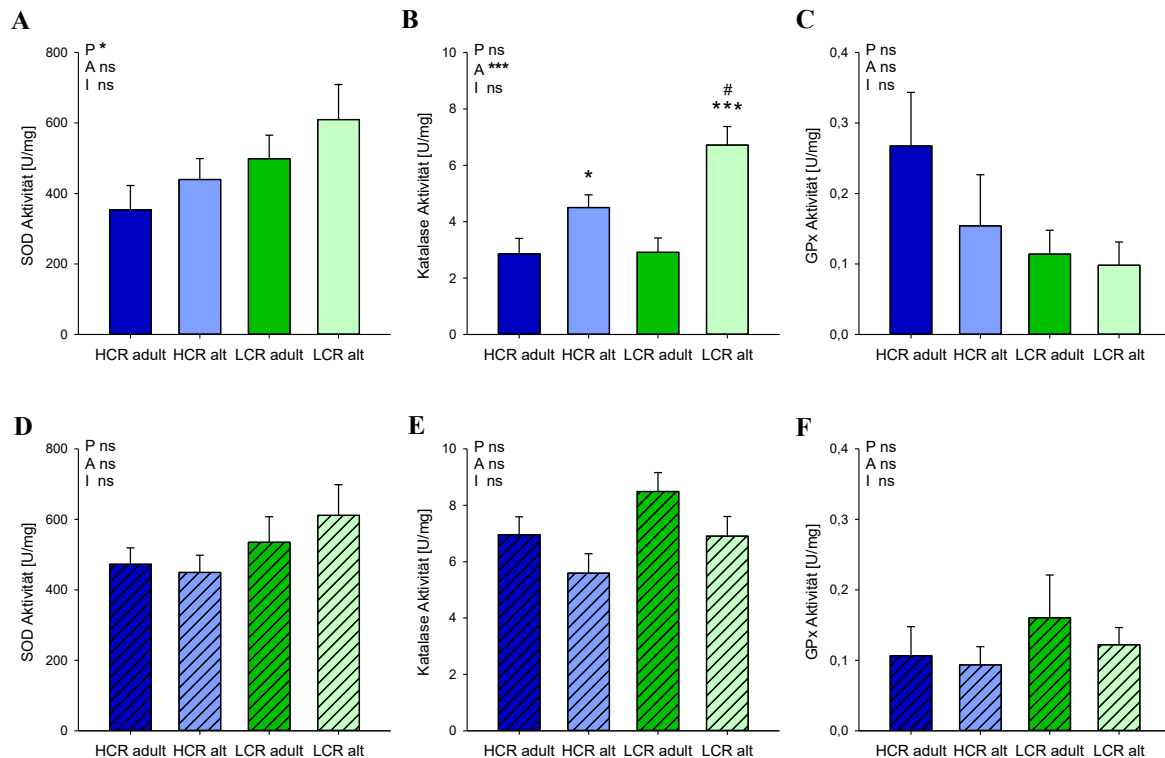


Abbildung 17 – Aktivität der Superoxiddismutase (SOD; A+D), Katalase (B+E) und Glutathionperoxidase (GPx; C+F) des Herzens von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/### p<0,01; ***/#### p<0,001. n = 4-10

Abbildung 18 zeigt die Aktivität antioxidativer Enzyme des Gastrocnemius. Adulte, weibliche LCR zeigten eine niedrigere Aktivität der Katalase als HCR. Im Alter nahm diese stärker bei weiblichen HCR zu. Männliche, adulte LCR wiesen eine höhere Aktivität der SOD und Katalase und gleichzeitig eine tendenziell niedrigere Aktivität der GPx auf. Im Alter nahm die Aktivität der Katalase bei männlichen HCR zu und die Aktivität der GPx tendenziell ab. Insgesamt war im Skelettmuskel die antioxidative Kapazität stärker bei HCR im Vergleich zu LCR erhöht.

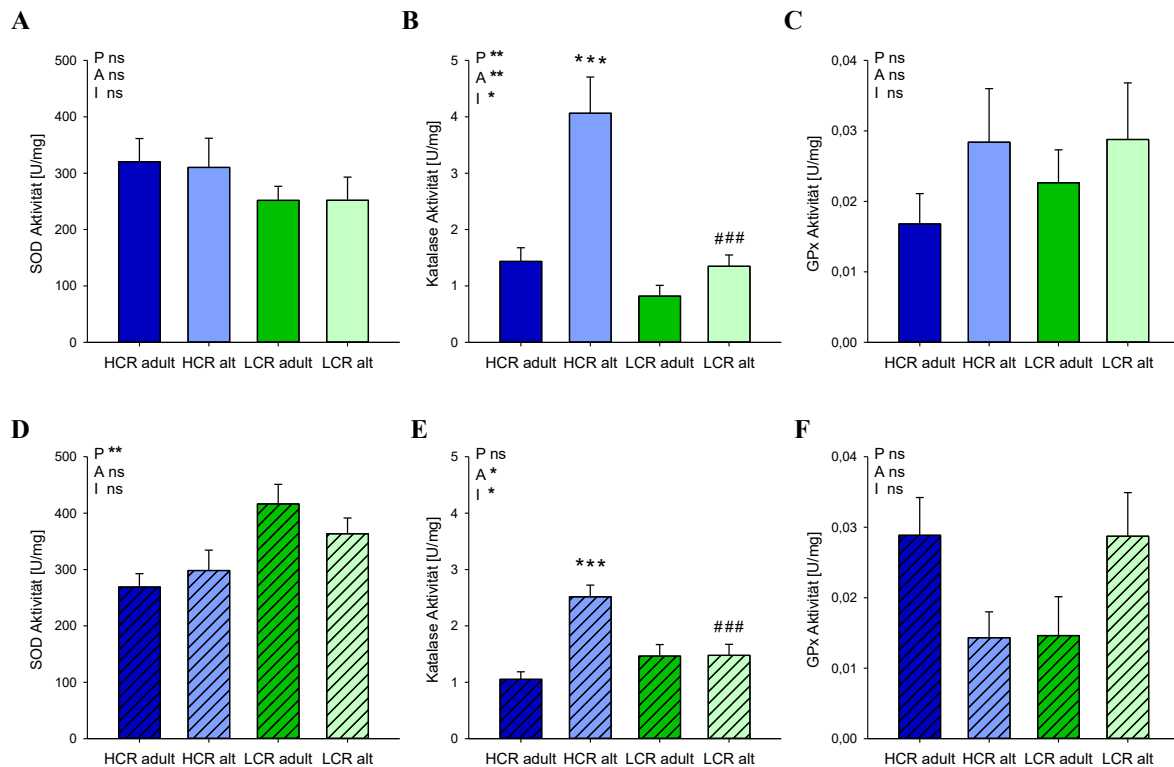


Abbildung 18 – Aktivität der Superoxiddismutase (SOD; A+D), Katalase (B+E) und Glutathionperoxidase (GPx; C+F) des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/### p<0,01; ***/#### p<0,001. n = 5-16

3.1.7 Oxidative Schäden im Gewebe

Im Herzen war der Gehalt an HNE und Carbonylen zwischen adulten HCR und LCR in beiden Geschlechtern vergleichbar (Abbildung 19). Im Alter stieg ebenfalls unabhängig vom Geschlecht der HNE Gehalt bei HCR an, während er bei LCR abnahm. Alte LCR zeigten einen geringeren HNE Gehalt als alte HCR. Der Carbonylgehalt stieg im Alter bei HCR und LCR unabhängig vom Geschlecht auf ein vergleichbares Niveau. Generell waren somit im Alter im Herzen die oxidativen Schäden bei HCR stärker als bei LCR.

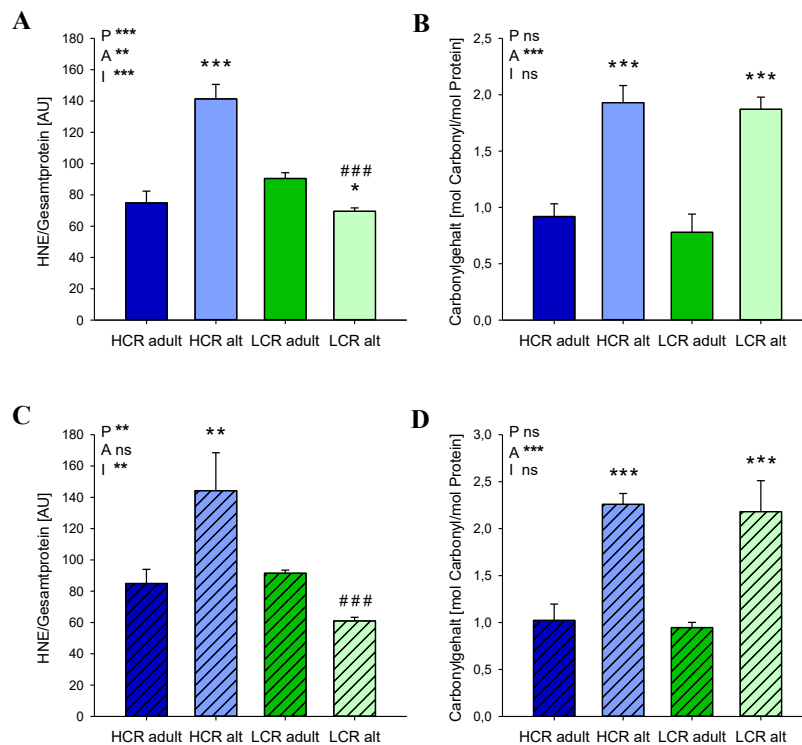


Abbildung 19 – 4-Hydroxynonenal (HNE; A+C) und Carbonylgehalt (B+D) als Marker oxidativer Schäden im Herzen von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# $p < 0,05$; **/### $p < 0,01$; ***/#### $p < 0,001$. $n = 5-8$

Im Gastrocnemius zeigten adulte, weibliche HCR und LCR einen vergleichbaren Gehalt an HNE und Carbonylen (Abbildung 20). Im Alter nahm der HNE Gehalt bei weiblichen LCR tendenziell ab. Der Carbonylgehalt stieg im Alter bei weiblichen LCR stärker als bei HCR. Bei Männchen war der HNE Gehalt bei adulten LCR niedriger als bei HCR und veränderte sich im Alter nicht weiter. Der Carbonylgehalt hingegen unterschied sich zwischen adulten, männlichen Tieren nicht und nahm im Alter bei HCR und LCR vergleichbar zu. In der Gesamtheit waren im Alter im Skelettmuskel bei HCR und LCR nur oxidative Proteinschäden erhöht.

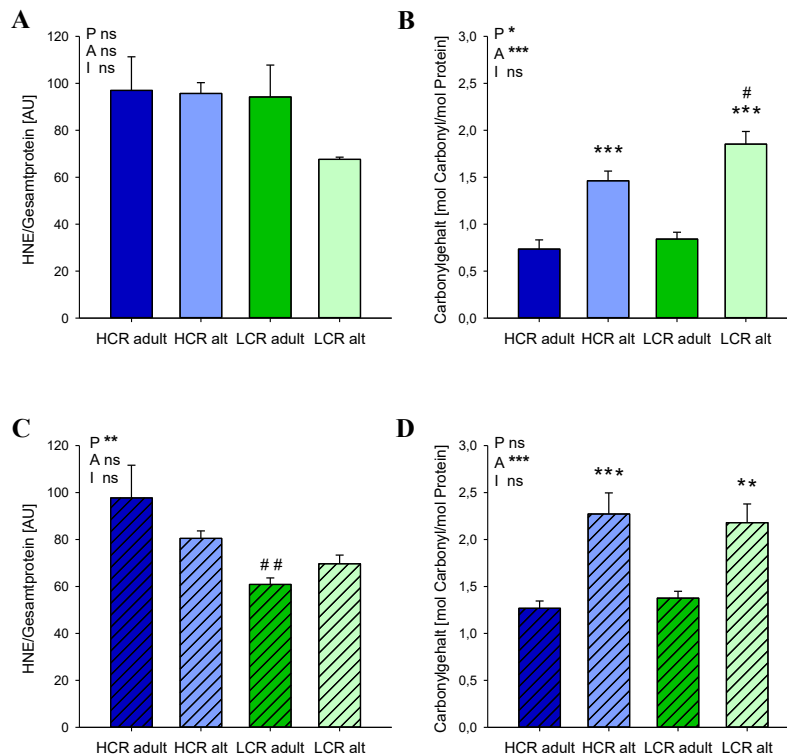


Abbildung 20 – 4-Hydroxynonenal (HNE; A+C) und Carbonylgehalt (B+D) als Marker oxidativer Schäden im Skelettmuskel von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/### p<0,01; ***/#### p<0,001. n = 5-7

3.2 Unterschiede zwischen alten und seneszenten Ratten mit hoher körperlicher Leistungsfähigkeit

Neben dem Vergleich von alten und seneszenten HCR wurden im Folgenden zusätzlich seneszente HCR mit alten LCR verglichen.

3.2.1 Körperliche Leistungsfähigkeit

Die Laufstrecke sowie die Laufzeit waren bei weiblichen, seneszenten HCR im Vergleich zu alten HCR vergleichbar (Abbildung 21). Seneszente, männliche HCR zeigten eine geringere Laufstrecke und Laufzeit als alte HCR. Zudem waren die Laufstrecke und Laufzeit bei seneszenten, männlichen HCR geringer als bei alten LCR (21 C+F). Dies deutet darauf hin, dass bei männlichen HCR im Alter die körperliche Leistungsfähigkeit später und zugleich stärker als bei LCR eingeschränkt ist.

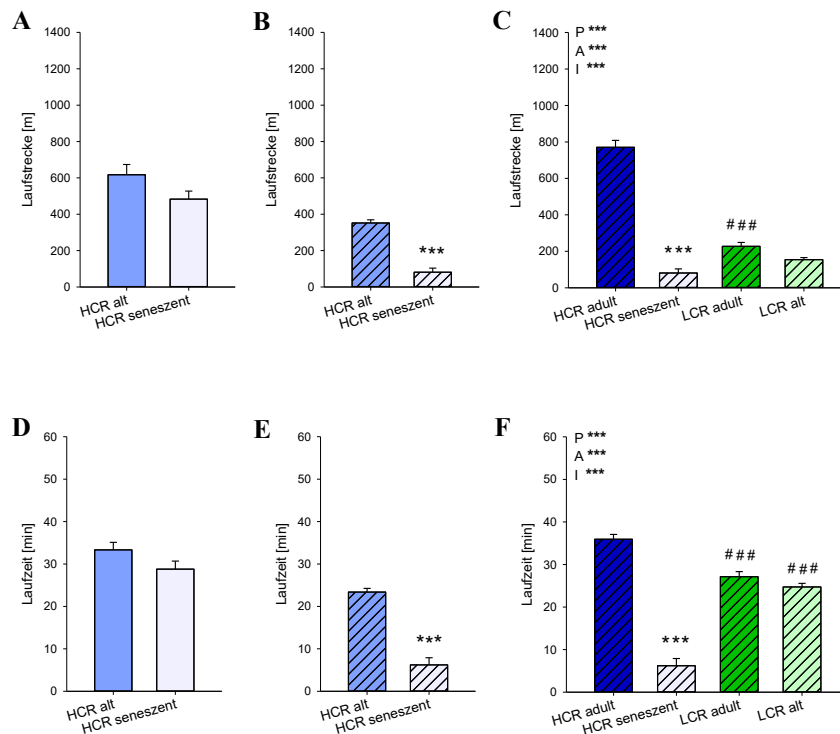


Abbildung 21 – Laufstrecke (A-C) und Laufzeit (D-F) von adulten, alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Lebensabschnitt. */# p<0,05; **/### p<0,01; ***/#### p<0,001. n = 3-12

3.2.2 Glukosetoleranz

Der Nüchternblutglukosespiegel war zwischen alten und seneszenten HCR in beiden Geschlechtern vergleichbar (Abbildung 22). In weiblichen Tieren stieg tendenziell die AUC als Zeichen einer verminderten Glukosetoleranz. Ebenso war bei weiblichen, seneszenten HCR die Glukosetoleranz stärker als bei alten LCR vermindert (22 D). Somit trat bei weiblichen HCR eine gestörte Glukosetoleranz später, aber auch stärker als bei LCR auf.

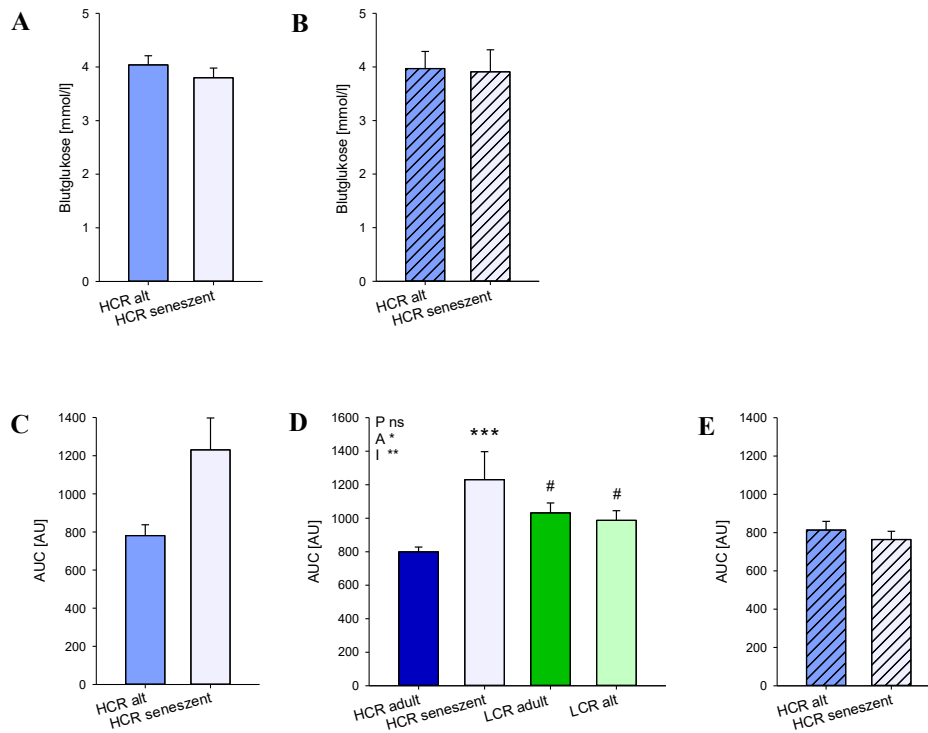


Abbildung 22 – Nüchternblutglukosespiegel (A+B) und Fläche unter der Kurve (AUC; B-E) des Glukosetoleranztests von adulten, alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P - Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, AU – *arbitrary unit*, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Lebensabschnitt. */# p<0,05; **/### p<0,01; ***/#### p<0,001. n = 4-13

3.2.3 Kardiale Funktion

Die Herzrate nahm bei seneszenten HCR im Vergleich zu alten HCR unabhängig vom Geschlecht ab (Abbildung 23). Zudem zeigten seneszente HCR eine geringere Herzrate als alte LCR. Das E/A Verhältnis sank bei männlichen, seneszenten HCR im Vergleich zu alten HCR als Zeichen einer Normalisierung der diastolischen Funktion (Tabelle 8). Ansonsten wurden keine Unterschiede beobachtet. Somit nahm bei HCR in der Seneszenz die kardiale Funktion nicht weiter ab.

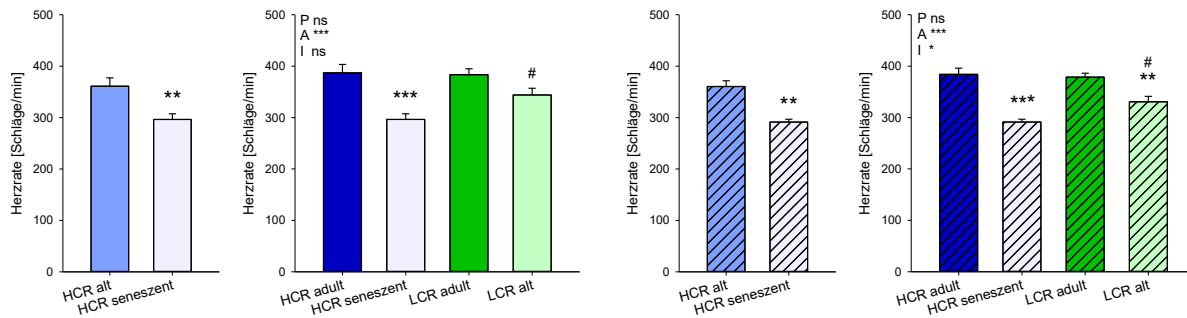


Abbildung 23 – Herzrate von adulten, alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Lebensabschnitt. */# $p < 0,05$; AU – arbitrary unit, **/### $p < 0,01$; ***/#### $p < 0,001$. $n = 4-10$

Tabelle 8 – Morphologie und Funktion des linken Ventrikels von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts

Parameter		HCR alt	HCR seneszent
Weibchen	LVPWd [mm]	$1,53 \pm 0,09$	$1,59 \pm 0,10$
	LVIDd [mm]	$8,47 \pm 0,32$	$8,06 \pm 0,15$
	E/A	$2,04 \pm 0,50$	$1,57 \pm 0,16$
	E/E'	$11,9 \pm 1,1$	$14,1 \pm 1,8$
	FS [%]	$31,2 \pm 3,5$	$33,2 \pm 3,5$
Männchen	LVPWd [mm]	$1,69 \pm 0,08$	$1,87 \pm 0,07$
	LVIDd [mm]	$8,63 \pm 0,36$	$8,46 \pm 0,17$
	E/A	$2,78 \pm 0,51$	$1,62 \pm 0,17^*$
	E/E'	$12,4 \pm 0,9$	$12,9 \pm 1,0$
	FS [%]	$38,9 \pm 2,3$	$38,9 \pm 3,0$

Werte sind als Mittelwert \pm SEM angegeben. LVPWd – diastolische Hinterwanddicke, LVIDd – enddiastolischer Innendurchmesser, E – frühdiastolische maximale Geschwindigkeit, A – spätdiastolische maximale Geschwindigkeit, E' – frühdiastolische Mitralanulusgeschwindigkeit, FS – Verkürzungsfraktion. * – versus alte HCR, # – vs. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. $n = 6-10$

3.2.4 Morphometrie der Tiere

Das Körpergewicht nahm bei seneszenten, weiblichen HCR im Vergleich zu alten HCR ab und war gleichzeitig geringer als bei alten LCR (Abbildung 24). Das relative Herzgewicht war bei seneszenten, weiblichen HCR geringer als bei alten HCR, unterschied sich aber nicht zu alten LCR. Weiterhin nahm das relative Lungengewicht bei seneszenten, männlichen HCR im Vergleich zu alten HCR zu. Unabhängig vom Geschlecht nahm bei seneszenten HCR das relative Gewicht des Gastrocnemius im Vergleich zu alten HCR ab und war zudem geringer als bei alten LCR. Parallel dazu nahm das relative Gewicht des Soleus bei seneszenten HCR im Vergleich zu alten HCR ab (Tabelle 22 Anhang). Ein Verlust der Skelettmuskelmasse trat im Alter somit nur bei HCR und nicht bei LCR auf.

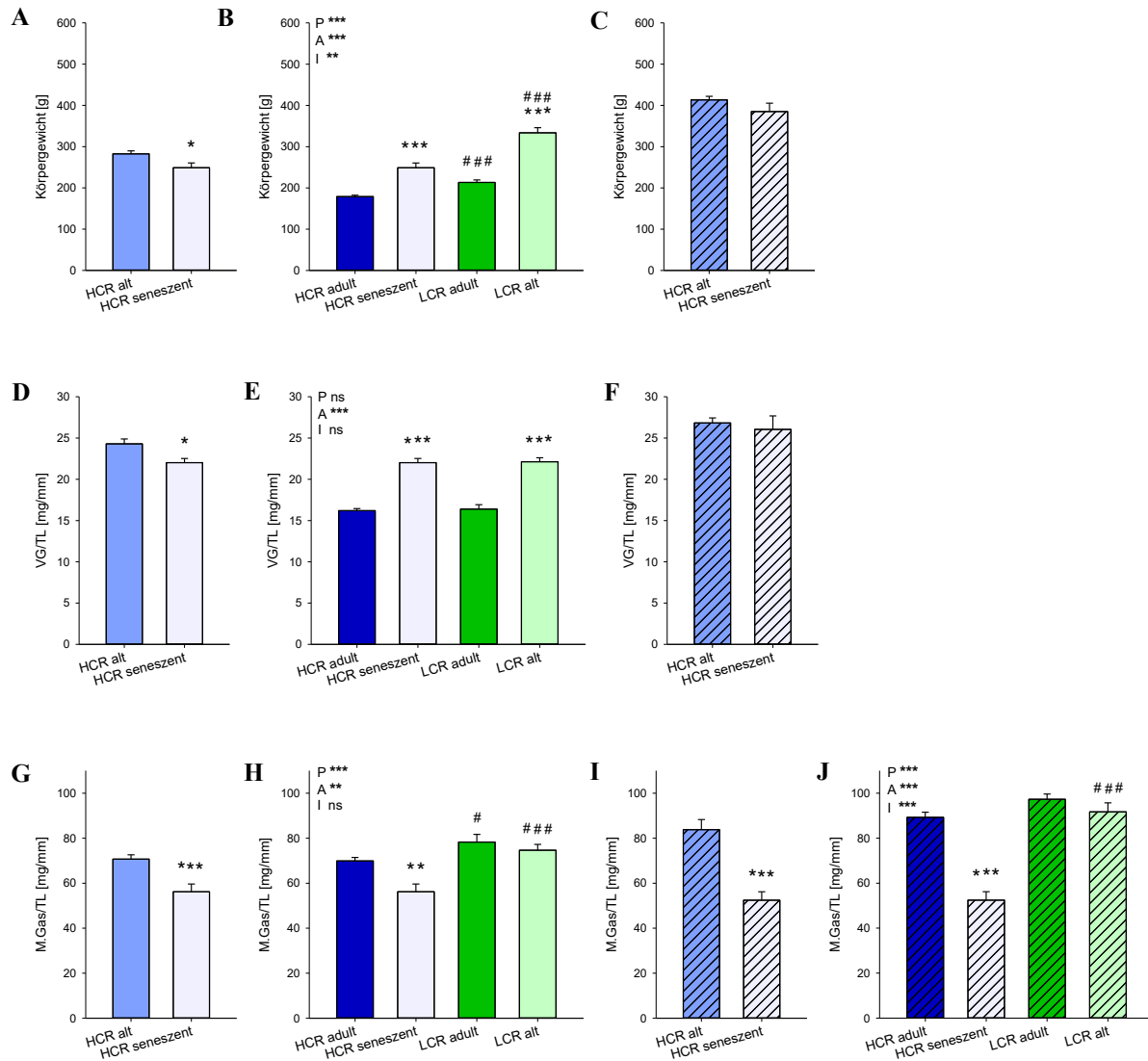


Abbildung 24 – Körpergewicht (A-C), relatives Ventrikelgewicht (VG, E-D) und relatives Gewicht des Gastrocnemius (M. Gas; G-J) bezogen auf die Tibiallänge (TL) von adulten, alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Lebensabschnitt. */# $p < 0,05$; **/### $p < 0,01$; ***/#### $p < 0,001$. $n = 4-14$

3.2.5 Mitochondriale Funktion

Der Proteingehalt nahm in allen Mitochondrienpopulationen bei seneszenten HCR im Vergleich zu alten HCR ab und deutet auf eine Veränderung der mitochondrialen Zusammensetzung hin (Tabelle 23 Anhang).

Morphologie isolierter Mitochondrien

In Tabelle 9 ist die Größe und Komplexität der Mitochondrien des Herzens, des Gastrocnemius und der Leber dargestellt. Weibliche, seneszente HCR zeigten im Herzen und der Leber komplexere Mitochondrien als alte HCR. Zudem nahm die Größe der Mitochondrien des Herzens, des Gastrocnemius und der Leber bei seneszenten HCR ab. Bei männlichen, seneszenten HCR hingegen waren die IFM des Gastrocnemius weniger komplex als die der alten HCR. Weiterhin zeigten seneszente, männliche HCR kleinere Mitochondrien des Herzens und des Gastrocnemius als alte HCR.

Tabelle 9 – Größe und Komplexität der interfibrillären und subsarkolemmalen Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beider Geschlechter

Mitopopulation		HCR alt	HCR seneszent
Weibchen	Herz IFM VS	17,0 ± 2,3	23,5 ± 1,2*
	Herz IFM SS	22,8 ± 2,2	12,7 ± 0,8***
	Herz SSM VS	15,7 ± 2,1	22,4 ± 2,0*
	Herz SSM SS	24,1 ± 2,4	15,4 ± 0,5**
	Gas IFM VS	27,9 ± 2,9	18,9 ± 1,7*
	Gas IFM SS	116,8 ± 27,6	16,8 ± 2,0**
	Gas SSM VS	27,0 ± 1,7	23,5 ± 2,2
	Gas SSM SS	72,5 ± 14,4	19,1 ± 1,5**
	Leber Mitos VS	38,6 ± 9,2	75,4 ± 9,6*
	Leber Mitos SS	31,2 ± 2,0	41,0 ± 6,7
Männchen	Herz IFM VS	26,4 ± 3,6	21,1 ± 1,8
	Herz IFM SS	22,8 ± 1,8	13,8 ± 0,8***
	Herz SSM VS	22,6 ± 3,7	23,3 ± 2,2
	Herz SSM SS	22,8 ± 1,7	15,8 ± 0,9**
	Gas IFM VS	23,6 ± 2,0	16,1 ± 0,7**
	Gas IFM SS	73,5 ± 19,5	14,0 ± 0,3**
	Gas SSM VS	23,9 ± 1,4	24,8 ± 3,6
	Gas SSM SS	52,0 ± 11,2	19,8 ± 1,9*
	Leber Mitos VS	48,2 ± 11,4	52,9 ± 7,7
	Leber Mitos SS	34,5 ± 4,1	29,6 ± 3,3

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in willkürlichen Einheiten [*arbitrary units*] angegeben. Mitopopulation – Mitochondrienpopulation, VS – Vorwärtsstreulicht, SS – Seitenstreulicht, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – *Musculus gastrocnemius*. * – versus alte HCR. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001. n = 6-15

Respiratorische Kapazität

Die maximale respiratorische Kapazität mit Palmitoylcarnitin ist in Abbildung 26 und mit weiteren Substraten in Tabelle 24 (Anhang) dargestellt. Mit Palmitoylcarnitin nahm bei weiblichen, seneszenten HCR im Vergleich zu alten HCR die maximale respiratorische

Kapazität der IFM des Gastrocnemius und tendenziell auch der SSM ab. Diese Abnahme wurde mit allen gemessenen Substraten beobachtet. Dies deutet darauf hin, dass die Einschränkung der mitochondrialen Funktion von alten HCR in der Seneszenz weiter zunimmt. Bei Männchen zeigten seneszente HCR mit Palmitoylcarnitin eine höhere maximale respiratorische Kapazität der kardialen IFM als alte HCR. Mit einem Großteil der weiteren Substrate war ebenfalls eine Erhöhung der maximalen respiratorischen Kapazität der IFM des Herzens und zusätzlich der Lebermitochondrien zu beobachten.

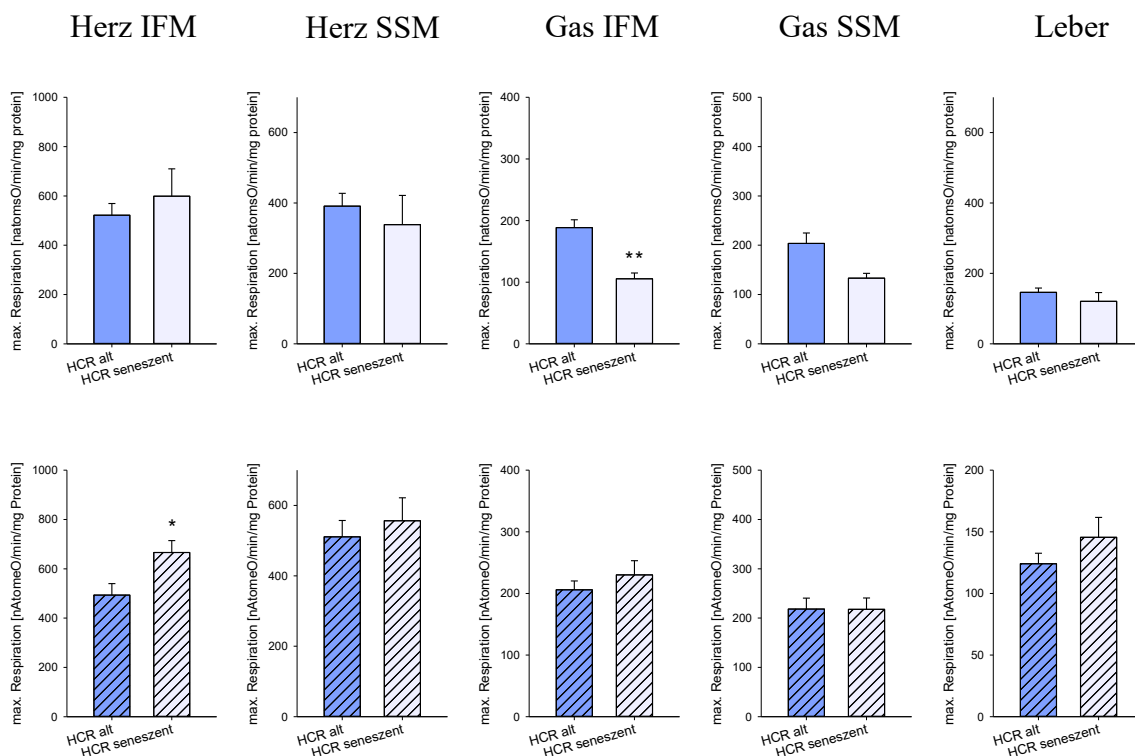


Abbildung 26 – Maximale Respiration der interfibrillären (IFM) und subsarkolemmalen (SSM) Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Mitochondrien der Leber von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken) in der Gegenwart von Palmitoylcarnitin mit Malat als spezifisches Komplex I Substrat. max. – maximale, Gas – Gastrocnemius. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus alte HCR. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. $n = 4-14$

In Abbildung 27 ist die maximale respiratorische Kapazität der IFM des Gastrocnemius von weiblichen HCR und LCR dargestellt. Unabhängig vom untersuchten Substrat war die maximale respiratorische Kapazität von seneszenten HCR mit alten LCR vergleichbar. Dies spricht dafür, dass bei Weibchen eine mitochondriale Dysfunktion des Skelettmuskels bei HCR später als bei LCR auftritt und mit der unterschiedlichen Lebensspanne assoziiert zu sein scheint.

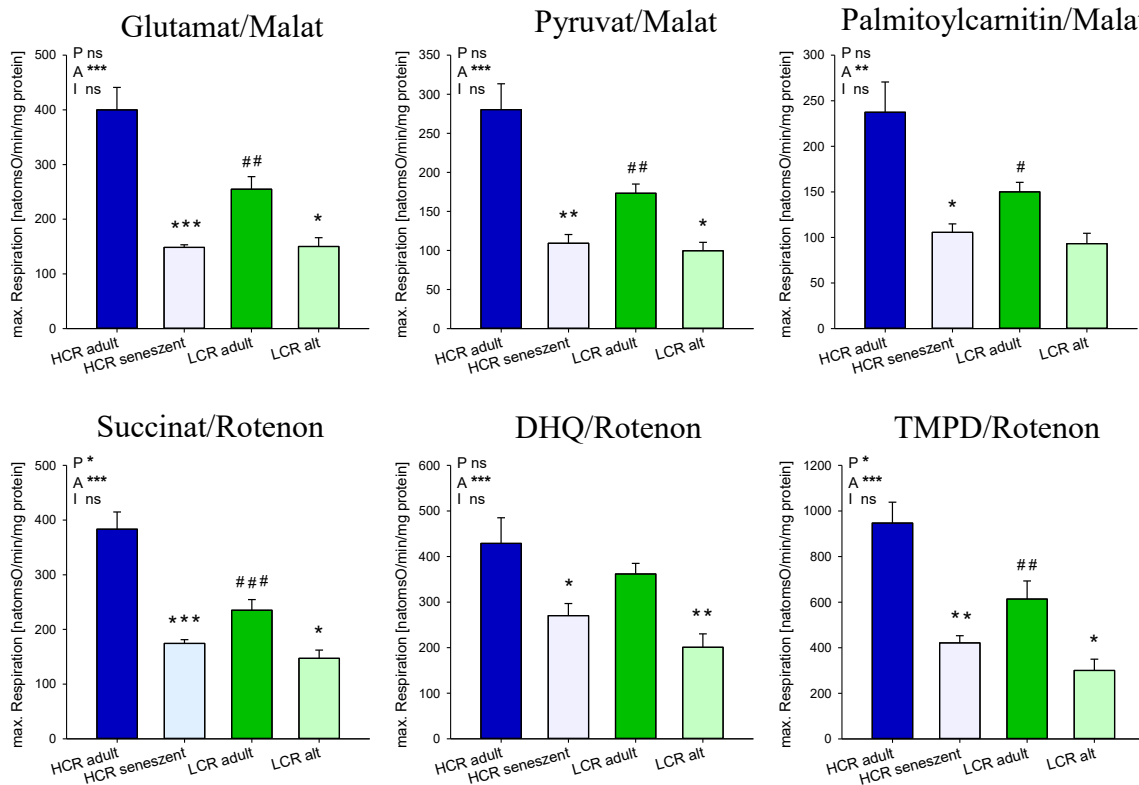


Abbildung 27 – Maximale Respiration der interfibrillären Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und seneszenten, weiblichen Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bzw. von adulten und alten, weiblichen Ratten mit niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit in der Gegenwart verschiedener Substrate. max. – maximale, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Lebensabschnitt. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 3-14

Zusätzlich nahm bei weiblichen, seneszenten HCR in den muskulären Mitochondrien (vornehmlich der IFM) die basale respiratorische Kapazität ab (Tabelle 25 Anhang). Dies deutet in Kombination mit der verminderten maximalen respiratorischen Kapazität auf einen aufrechterhaltenen Protonengradienten der Mitochondrien hin. Das ADP/O Verhältnis sank ebenfalls bei seneszenten HCR (Tabelle 26 Anhang). Somit war nicht nur die respiratorische Kapazität, sondern auch die Effizienz der ATP Produktion bei HCR in der Seneszenz vermindert.

Mitochondriale ROS-Produktion

Die mitochondriale ROS-Produktion zeigte unabhängig vom Gewebe einen tendenziellen Anstieg bei seneszenten im Vergleich zu alten HCR (Tabelle 10). Dieser Effekt war deutlicher bei Männchen und betraf vornehmlich die maximale ROS-Produktion an Komplex I sowie die maximale ROS-Produktion an Komplex III + Komplex I. Die maximale ROS-Produktion an Komplex III war unverändert (Daten nicht gezeigt). Dies lässt einen Defekt der

Komplex I Aktivität bei seneszenten HCR vermuten. Ein Anstieg der mitochondrialen ROS-Produktion trat bei hoher körperlicher Leistungsfähigkeit somit erst mit der Seneszenz auf.

Tabelle 10 – ROS-Produktion isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts mit Glutamat als Substrat

Herkunft ROS		Weibchen		Männchen	
		HCR alt	HCR seneszent	HCR alt	HCR seneszent
Herz IFM	Basal KI + KIII	64,4 ± 16,6	97,5 ± 4,9	45,0 ± 7,5	80,6 ± 10,6*
	Max. KI	23,4 ± 9,0	51,7 ± 6,3	8,7 ± 2,0	21,2 ± 2,5**
	Max. KIII + KI	336 ± 97	971 ± 126**	112 ± 28	354 ± 35***
Herz SSM	Basal KI + KIII	85,0 ± 22,8	94,1 ± 6,6	57 ± 11	112 ± 27
	Max. KI	30,6 ± 9,1	39,1 ± 6,4	16,9 ± 4,4	44,3 ± 9,7*
	Max. KIII + KI	256 ± 64	536 ± 110*	188 ± 35	308 ± 64
Gas IFM	Basal KI + KIII	16,5 ± 4,9	36,0 ± 15,4	13,1 ± 1,9	32,0 ± 8,3*
	Max. KI	10,5 ± 2,2	18,7 ± 6,3	9,7 ± 1,9	9,0 ± 1,3
	Max. KIII + KI	96,5 ± 27,0	139 ± 60	58,7 ± 9,5	89 ± 11
Gas SSM	Basal KI + KIII	78 ± 16	106 ± 13	70,4 ± 9,8	128 ± 35
	Max. KI	28,8 ± 10,9	33,2 ± 6,2	17,6 ± 4,0	51,1 ± 13,3*
	Max. KIII + KI	189 ± 40	282 ± 30	126 ± 17	245 ± 52*
Leber Mitos	Basal KI + KIII	20,2 ± 7,0	31,4 ± 15,6	18,4 ± 5,8	31,2 ± 7,2
	Max. KI	45,5 ± 4,6	37,2 ± 14,6	27,7 ± 5,2	72,6 ± 9,7***
	Max. KIII + KI	113 ± 28	127 ± 78	107 ± 14	6,2 ± 0,8**

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [μmol/l/min] angegeben, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien Gas – Gastrocnemius, KI – Komplex I, KIII – Komplex III, Max. – maximale, * – versus alte HCR. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001. n = 3-8

Calciumsensitivität

Die Calciumsensitivität der Mitochondrien unterschied sich bei seneszenten HCR, im Vergleich zu alten HCR, nur im Skelettmuskel der Weibchen (Abbildung 28). Dabei zeigten weibliche, seneszente HCR eine geringere Schwellung der Mitochondrien als alte HCR, was auf eine geringere Calciumsensitivität der MPTP hinweist.

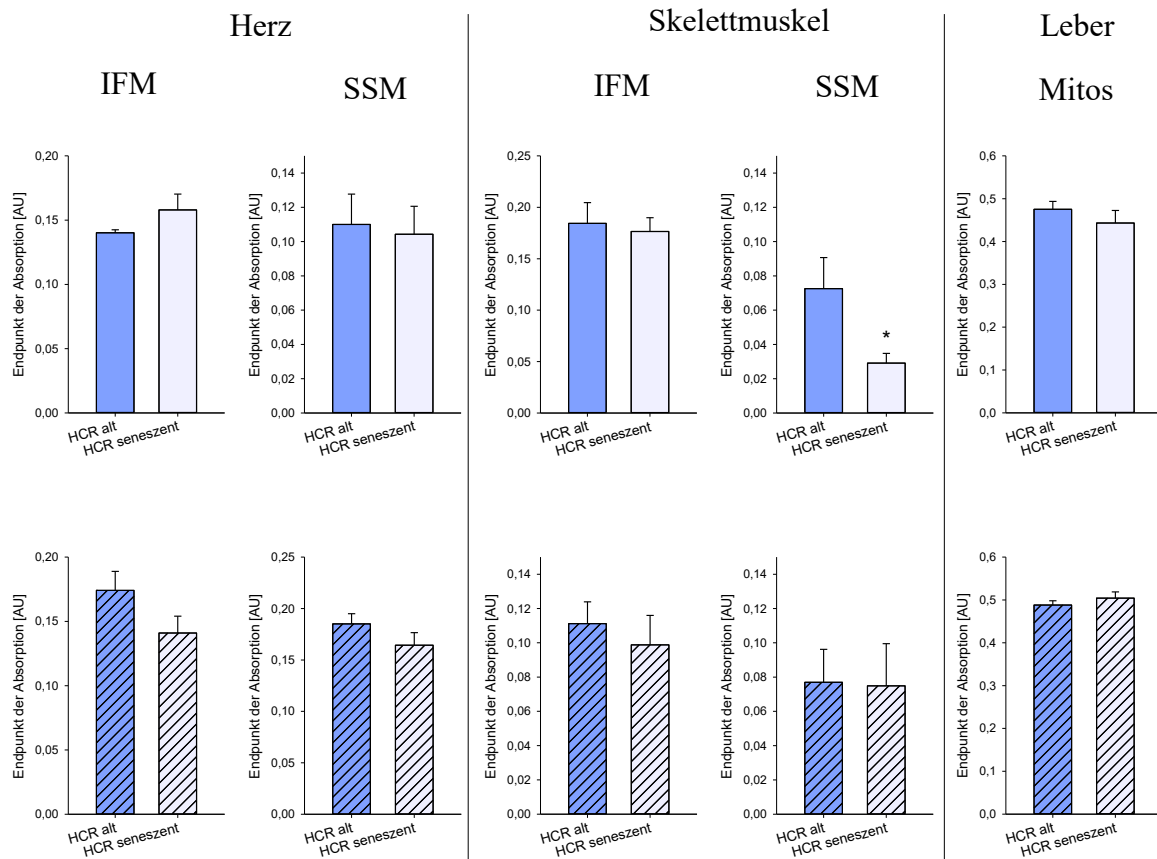


Abbildung 28 – Calcium-induziertes Anschwellen der interfibrillären (IFM) und subsarkolemmalen (SSM) Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Mitochondrien der Leber von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bei Weibchen (ungefüllte Balken) und Männchen (gestreifte Balken). Für das Anschwellen wurde die Abnahme (Endpunkt) der Absorption bestimmt. Mitos – Mitochondrien. Daten sind als Mittelwert + SEM angegeben. * – versus alte HCR. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. $n = 4-8$

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurde erstmalig der Einfluss der intrinsischen körperlichen Leistungsfähigkeit im Alter auf den Stoffwechsel der Mitochondrien und die Herzfunktion untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass im Alter eine mitochondriale Dysfunktion der Skelettmuskulatur bei Ratten mit niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit früher als bei Ratten mit hoher körperlicher Leistungsfähigkeit auftritt. Dies deutet auf eine Assoziation der mitochondrialen Funktion mit der unterschiedlichen Lebensspanne der Tiere hin. Die Dysfunktion der Skelettmuskulatur im Alter zeigte sich bei Weibchen in Form einer Verminderung der respiratorischen Kapazität und bei Männchen in Form einer Verminderung der Mitochondrienmenge. Somit scheint der Mechanismus geschlechtsspezifisch zu sein. Die kardiale Funktion nahm mit dem Alter ab und war in HCR und LCR nicht verschieden. Parallel dazu nahm auch die mitochondriale Funktion im Herzen ab. Das zeigt einerseits eine Assoziation zwischen der kontraktilen und mitochondrialen Funktion im Herzen und andererseits einen fehlenden kardialen Einfluss auf die Lebenserwartung der Tiere. Unerwartet nahm die mitochondriale ROS-Produktion bei alten HCR und LCR vergleichbar ab, während oxidative Schäden anstiegen. Somit scheinen mitochondriale ROS sowie oxidativer Stress ebenfalls keine Rolle für die Lebensspanne der HCR und LCR zu spielen.

Durch die Selektion auf hohe oder niedrige körperliche Leistungsfähigkeit weisen LCR eine deutlich niedrigere körperliche Leistungsfähigkeit als HCR auf (Schwarzer et al. 2010, Morris et al. 2019, Koch und Britton 2001). Die eingeschränkte körperliche Leistungsfähigkeit geht dabei im Skelettmuskel mit einer verminderten mitochondrialen Menge und Funktion einher (Seifert et al. 2012, Souza et al. 2018, Thyfault et al. 2009). Seifert et al. beschreiben, dass die höhere Funktion isolierter Mitochondrien des Skelettmuskels bei HCR im Vergleich zu LCR mit einer höheren mitochondrialen ROS-Produktion sowie verminderten mitochondrialen oxidativen Proteinschäden einhergeht. Die Autoren vermuten, dass dies ein Anpassungsmechanismus auf die höhere körperliche Arbeitslast ist, der zu erhöhten zellulären Reparaturmechanismen führt und mit dem geringeren Erkrankungsrisiko der HCR assoziiert ist (Seifert et al. 2012). Tweedie et al. zeigten weiterhin, dass HCR im roten Anteil des Gastrocnemius eine erhöhte antioxidative Kapazität aufweisen und somit eine bessere Antwort auf oxidativen Stress haben (Tweedie et al. 2011). In der vorliegenden Arbeit war bei HCR die höhere körperliche Leistungsfähigkeit mit einer höheren mitochondrialen Menge und Funktion und mit einer erhöhten ROS-Produktion im Skelettmuskel assoziiert. Diese Befunde stehen im Einklang mit den vorherigen Arbeiten. Im Gegensatz zu der Untersuchung

von Seifert et al. wurden oxidative Schäden nicht der Mitochondrien, sondern des Skelettmuskelhomogenats untersucht, wobei keine Unterschiede zwischen HCR und LCR gefunden wurden. Auch die antioxidative Kapazität unterschied sich nicht. Da diese in einer Mischung des roten und des weißen Anteils des Gastrocnemius gemessen wurde, erklären sich die zu der Untersuchung von Tweedie et al. (2011) unterschiedlichen Ergebnisse. Insgesamt scheint die hohe körperliche Leistungsfähigkeit mit einer erhöhten Funktion der Skelettmuskelmitochondrien einherzugehen, nicht aber mit einer erhöhten Antwort auf oxidativen Stress oder einer erhöhten zellulären Reparatur.

Nicht nur im Skelettmuskel, sondern auch im Herzen sind Unterschiede zwischen HCR und LCR beschrieben. Es wurde bereits eine höhere Herzleistung der HCR im Vergleich zu LCR bei isolierter Herzperfusion gezeigt (Hussain et al. 2001). Souza et al. fanden in einer echokardiografischen Untersuchung des Herzens nur Unterschiede in der Herzrate in Ruhe. Diese war bei HCR niedriger. Parallel dazu war in isolierten Herzfasern die respiratorische Kapazität der Mitochondrien bei HCR höher als bei LCR (Souza et al. 2018). In der vorliegenden Arbeit zeigten sich hingegen nicht nur in der Herzfunktion, sondern auch in der Herzrate keine Unterschiede zwischen HCR und LCR. Im Gegensatz zu Souza et al. wurde die respiratorische Kapazität von isolierten Mitochondrien untersucht und es zeigte sich, dass neben der Herzfunktion auch die respiratorische Kapazität der kardialen Mitochondrien zwischen HCR und LCR vergleichbar war. Somit scheint die hohe oder niedrige intrinsische körperliche Leistungsfähigkeit das Herz nicht unterschiedlich zu beeinflussen.

Altern geht mit einer Einschränkung muskulärer Mitochondrien einher (Lanza und Nair 2010). Für die oxidative Kapazität eines Gewebes sind sowohl die Mitochondrienmenge als auch die respiratorische Kapazität entscheidend. Im humanen Skelettmuskel wurde im höheren Alter eine Abnahme der respiratorischen Kapazität und der Mitochondrienmenge gefunden (Crane et al. 2010, Cooper et al. 1992). Auch bei Ratten wurde eine Verminderung der Mitochondrienmenge beschrieben (Hepple et al. 2005, Kerner et al. 2001). Bei HCR und LCR nahm mit höherem Alter sowohl die Mitochondrienmenge als auch die maximale respiratorische Kapazität ab. Zusätzlich änderte sich die Morphologie. Die Mitochondrien wurden bei HCR und LCR größer. Auch Seo et al. beschrieben, dass mit höherem Alter die Mitochondrien größer werden. Die Autoren vermuten eine Akkumulation dieser großen Mitochondrien und einen damit einhergehenden Funktionsverlust (Seo et al. 2010). Insgesamt scheint Altern bei HCR und LCR mit einer Beeinträchtigung der Skelettmuskelmitochondrien assoziiert zu sein.

Für die altersassoziierten Veränderungen der Mitochondrien kommen verschiedene Mechanismen in Frage. Die Mitochondrienmenge ist von der Synthese- und der Abbaurate der Mitochondrien abhängig. Ein bedeutender Regulator der mitochondrialen Biogenese ist der *Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α* (PGC-1 α). Eine verminderte Menge oder Expression von PGC-1 α kann die mitochondriale Menge reduzieren (Liang und Ward 2006). In ~70-jährigen Menschen ist im Vergleich zu Erwachsenen eine Reduktion der Boten-Ribonukleinsäure von PGC-1 α in muskulären Mitochondrien beschrieben (Ghosh et al. 2011). Chabi et al. fanden bei alten Ratten eine reduzierte Proteinmenge von PGC-1 α . Damit einher ging eine verminderte Mitochondrienmenge im Skelettmuskel (Chabi et al. 2008). Diese beiden Untersuchungen geben Hinweise darauf, dass die mitochondriale Biogenese im Alter gestört ist, was auch eine mögliche Erklärung für die verminderte Mitochondrienmenge der HCR und LCR sein könnte. Im Gegensatz zur Mitochondrienmenge kann die respiratorische Kapazität von der Aktivität der Atmungskettenkomplexe abhängen. Untersuchungen im Alter bei Menschen oder Tieren zeigen eine Verminderung der Komplex I, III und IV Aktivität, nicht aber der Komplex II Aktivität (Peterson et al. 2012, Pastoris et al. 2000, Kerner et al. 2001). In der vorliegenden Arbeit wurden die isolierten Komplexaktivitäten nicht untersucht. Die Bestimmung der maximalen respiratorischen Kapazität zeigte jedoch, dass die Abnahme im höheren Alter bei HCR und LCR unabhängig vom verwendeten Substrat war. Sowohl mit verschiedenen Komplex I Substraten – wie Fettsäure-, Aminosäuresubstrate oder Glukosederivate – als auch mit den Substraten, die spezifisch Elektronen an Komplex II, III oder IV liefern, war einheitlich ein Abfall der respiratorischen Kapazität gefunden worden. Dies lässt vermuten, dass eine Verminderung der Aktivitäten aller Komplexe von I-IV auftritt. Neben der Aktivität der Komplexe ist die respiratorische Aktivität zudem abhängig von der Kopplung der Mitochondrien. Bei Ratten wurde mit zunehmendem Alter eine verminderte basale Respiration mit einer gleichzeitig verminderten Expression von Entkopplungsproteinen beschrieben (Barazzoni und Nair 2001, Kerner et al. 2001). Bei HCR und LCR war die basale Respiration mit zunehmendem Alter vermindert und steht damit im Einklang mit vorherigen Arbeiten. Die verminderte maximale respiratorische Kapazität in Verbindung mit der verminderten basalen respiratorischen Kapazität spricht dafür, dass die Kopplung der Mitochondrien der HCR und LCR mit höherem Alter erhalten bleibt.

Es wird vermutet, dass es einen Zusammenhang zwischen der mitochondrialen Funktion der Skelettmuskulatur und der körperlichen Leistungsfähigkeit gibt (Distefano et al. 2018) und dass diese Abhängigkeit auch im höheren Alter besteht. Eine Beeinträchtigung der

muskulären Mitochondrien ist vornehmlich bei Menschen mit einer niedrigen, nicht aber mit einer hohen körperlichen Leistungsfähigkeit beschrieben (Peterson et al. 2012, Joseph et al. 2012). In alten Menschen korreliert eine geringere mitochondriale Funktion mit einer geringeren Laufgeschwindigkeit (Coen et al. 2013). Chabi et al. führten bei alten Ratten eine geringere Mitochondrienmenge auf die schnellere Ermüdbarkeit der Muskelkontraktion zurück (Chabi et al. 2008). Im Modell der HCR und LCR beschrieben Karvinen et al., dass bei adulten sowie bei alten LCR die körperliche Leistungsfähigkeit geringer als bei HCR ist (Karvinen et al. 2016). In der vorliegenden Arbeit konnte ebenfalls gezeigt werden, dass alte LCR eine geringere körperliche Leistungsfähigkeit als alte HCR aufweisen. Auch die Menge sowie die Funktion der Skelettmuskelmitochondrien waren bei alten LCR geringer als bei alten HCR. Die Unterschiede in der Funktion der Skelettmuskelmitochondrien und der körperlichen Leistungsfähigkeit waren zwischen HCR und LCR somit nicht nur bei adulten Tieren, sondern auch bei alten Tieren vorhanden. Die Befunde deuten darauf hin, dass im Alter – wie auch beim Menschen beschrieben – eine niedrigere körperliche Leistungsfähigkeit mit einer stärkeren Beeinträchtigung der muskulären Mitochondrien assoziiert ist. Die unterschiedliche körperliche Leistungsfähigkeit der HCR und LCR ist intrinsisch bedingt. Somit scheint die Stärke der Beeinträchtigung der Skelettmuskelmitochondrien im Alter von der intrinsischen körperlichen Leistungsfähigkeit abhängig zu sein.

In der vorliegenden Arbeit konnte zudem erstmalig gezeigt werden, dass die Funktion und Menge der Skelettmuskelmitochondrien bei seneszenten HCR weiter abnahm. Der Unterschied zu alten LCR verschwand dadurch. Folglich trat bei LCR die Beeinträchtigung der muskulären Mitochondrien früher und bei HCR erst später auf. Gleichzeitig nahm auch die körperliche Leistungsfähigkeit der HCR erst in der Seneszenz noch weiter ab und war damit nicht mehr höher als bei alten LCR. Es wird in der Literatur diskutiert, dass eine Abnahme der Funktion und des Gehalts der Skelettmuskelmitochondrien nicht nur die Funktion des Skelettmuskels selbst beeinflusst und mit Sarkopenie assoziiert ist, sondern auch die Lebensspanne regulieren kann (Lanza und Nair 2010, Demontis et al. 2013). In der vorliegenden Arbeit wurde das Vorhandensein einer Sarkopenie nicht bestimmt. Atrophie, als Anzeichen einer Sarkopenie, kann mit einer mitochondrialen Dysfunktion sowie einer verminderten Mitochondrienmenge zusammenhängen (Calvani et al. 2013, Romanello et al. 2010, Wenz et al. 2009). Weiterhin ist ein Verlust der Skelettmuskulatur mit einer verminderten Insulinempfindlichkeit assoziiert (Arias et al. 2001, Keshel und Coker 2015). Die Glukose- und Insulintoleranz war bei alten LCR niedriger als bei alten HCR und könnte damit auf eine verminderte Insulinempfindlichkeit hindeuten. Das im Verhältnis zum

Körpergewicht nicht deutlich geringere Muskelgewicht der alten LCR im Vergleich zu alten HCR lässt keine stärkere Atrophie bei alten LCR vermuten. Andererseits könnte durch die bei LCR stärkere mitochondriale Dysfunktion – besonders der IFM – die Skelettmuskelkraft stärker als bei HCR vermindert sein und gleichzeitig die niedrigere körperliche Leistungsfähigkeit bedingen. Insgesamt war im Alter die frühere Dysfunktion der Skelettmuskelmitochondrien bei intrinsisch niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit mit der verkürzten Lebensspanne assoziiert. Dies spricht für die Vermutung, dass die Mitochondrien der Skelettmuskulatur eine regulatorische Rolle für die Lebensspanne spielen. Es kann spekuliert werden, dass auch beim Menschen mit einer geringen intrinsischen körperlichen Leistungsfähigkeit eine Skelettmuskeldysfunktion im Alter früher auftritt und mit einer verkürzten Lebensspanne einhergeht.

Ein weiterer neuer Befund war, dass sich die bei HCR und LCR mit der unterschiedlichen Lebensspanne assoziierte Beeinträchtigung der muskulären Mitochondrien zwischen Männchen und Weibchen unterscheidet. Bei Weibchen war bei alten LCR und seneszenten HCR die mitochondriale Respiration und Effizienz der ATP-Produktion in einem vergleichbaren Maß eingeschränkt. Bei Männchen war die mitochondriale Respiration bei seneszenten HCR höher als bei alten LCR. Allerdings war die mitochondriale Menge bei männlichen, seneszenten HCR und alten LCR in einem vergleichbaren Maß vermindert. Dies lässt einen geschlechtsspezifischen Mechanismus vermuten. Somit scheint im Alter bei Männchen die Fehlregulation der mitochondrialen Menge eine stärkere Rolle zu spielen, während bei Weibchen die Funktionsstörung der einzelnen Mitochondrien relevanter zu sein scheint.

Nicht nur dem Skelettmuskel, sondern auch dem Herzen wird im Alter eine wichtige Rolle zugeschrieben und ein Funktionsverlust mit zunehmendem Alter vermutet. Bei Ratten und im Menschen wurden das Auftreten einer Dilatation, einer Hypertrophie sowie systolischer und diastolischer Funktionseinschränkungen beschrieben. Die Änderungen in der Herzfunktion im höheren Alter waren vor allem beim Menschen sehr unterschiedlich und abhängig vom Vorhandensein von zusätzlichen Krankheiten oder dem Lebensstil (Lakatta und Sollott 2002). Auch das Geschlecht scheint einen Einfluss zu zeigen. Es wurde beschrieben, dass bei Frauen im Alter frühere Einschränkungen der diastolischen Funktion und bei Männern frühere Einschränkungen der systolischen Funktion auftreten (Merz und Cheng 2016, Gebhard et al. 2013). Bei HCR und LCR nahm mit höherem Alter die Herzrate ab. Zudem nahm die Dilatation und Hypertrophie des Herzens zu. Das Auftreten altersassoziierter Beeinträchtigungen der Herzfunktion war somit im Einklang mit vorherigen Arbeiten bei

Menschen und anderen Rattenmodellen. Weiterhin konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass bei Weibchen die systolische Funktion, während bei Männchen vielmehr die diastolische Funktion beeinträchtigt war. Dies zeigt, dass bei HCR und LCR im Alter die Einschränkungen der Herzfunktion geschlechtsspezifisch sind.

Es könnte dabei ein Zusammenhang zwischen der Funktion des Herzens mit der mitochondrialen Funktion bestehen. Bei Herzinsuffizienz (Zhou und Tian 2018, Schwarzer et al. 2013) sowie bei Patienten mit Diabetes (Montaigne et al. 2014) wurde gezeigt, dass eine verminderte kontraktile Funktion des Herzens mit einer verminderten mitochondrialen Funktion einhergeht. Eine Abnahme der mitochondrialen Respiration mit höherem Alter wurde bei Ratten bereits in permeabilisierten Herzfasern sowie in isolierten kardialen Mitochondrien beschrieben (Fannin et al. 1999, Lemieux et al. 2010). Yan et al. zeigten bei Affen, dass die Abnahme der respiratorischen Kapazität der Mitochondrien nur die Männchen betraf (Yan et al. 2004). In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die respiratorische Kapazität nur bei weiblichen Tieren, nicht jedoch bei männlichen Tieren abnahm. Die Abnahme der respiratorischen Kapazität bei weiblichen Tieren mit höherem Alter war parallel zur Abnahme der systolischen Funktion des Herzens. Diese Befunde sprechen ebenfalls für einen Zusammenhang zwischen der kontraktilen und der mitochondrialen Funktion des Herzens. Somit war außerdem nicht nur die Funktion des Herzens, sondern auch die mitochondriale Funktion im Alter geschlechtsspezifisch beeinträchtigt.

Es ist allerdings zu beachten, dass der Einfluss der mitochondrialen Funktion auf die Herzfunktion auch von den mitochondrialen Subpopulationen abhängig ist. Für die Kontraktion der (Herz-)Muskulatur sollen vornehmlich IFM ATP generieren. SSM wiederum sollen vermehrt ATP für die basalen Zellfunktionen liefern (Schwarzer et al. 2013, Hollander et al. 2014). Zudem machen IFM mit ungefähr 80 % den größten Anteil im Muskelgewebe aus (Hoppeler 1986). Der Effekt des Alterns auf mitochondriale Subpopulationen wurde bisher vermehrt im Herzen untersucht und ein stärkerer Funktionsverlust bei IFM im Vergleich zu SSM festgestellt (Boengler et al. 2017, Lesnefsky et al. 2016). Fannin et al. zeigten eine verminderte respiratorische Kapazität der IFM bei Ratten mit höherem Alter (Fannin et al. 1999). Die respiratorische Kapazität der SSM wurde in Rattenherzen hingegen als unverändert beschrieben (Takasawa et al. 1993, Escobales et al. 2014). Bei HCR und LCR nahm im Alter bei Weibchen die respiratorische Kapazität sowohl der IFM als auch der SSM ab. Bei Männchen blieb sie bei IFM und SSM mit höherem Alter im Vergleich zu adulten Tieren unverändert. Dies spricht dafür, dass zunehmendes Alter die Funktion der

mitochondrialen Subpopulationen des Herzens bei HCR und LCR gleichermaßen beeinflusst. Da bei Weibchen beide mitochondrialen Subpopulationen eine verminderte Funktion zeigten, kann vermutet werden, dass sowohl die kontraktile Funktion des Herzens als auch basale zelluläre Prozesse eingeschränkt sind.

Weiterhin war bei Weibchen auffällig, dass die mitochondriale Respiration mit Fettsäuren stärker als mit anderen Komplex I Substraten vermindert war. Dieser Befund deutet auf eine zusätzliche Einschränkung der Fettsäureoxidation hin. Die Abnahme der respiratorischen Kapazität mit Fettsäuren bei weiblichen HCR und LCR im Alter könnte entweder mit einer verminderten Enzymexpression (LeMoine et al. 2006) oder einem verminderten Fettsäuretransport (McMillin et al. 1993) zusammenhängen. Es wurde vorgeschlagen, dass im Alter die Fettsäureoxidation des humanen Herzens vermindert ist (Kates et al. 2003). Unter normalen Bedingungen wird ATP im Herzen zu 50-70 % aus der Oxidation von Fettsäuren geliefert (McMillin et al. 1993). Es wäre denkbar, dass durch die eingeschränkte respiratorische Kapazität der Fettsäuren das Herz bei weiblichen HCR und LCR vermehrt auf Glukose- oder Aminosäuresubstrate angewiesen ist, um ausreichend mit ATP versorgt werden zu können.

Beim Menschen mit einer hohen, im Vergleich zu einer niedrigen, körperlichen Leistungsfähigkeit sind zahlreiche positive Effekte auf den Erhalt der Herzfunktion sowie der Funktion der kardialen Mitochondrien im Alter beschrieben (Jakovljevic 2018, Akerman et al. 2014, Dai et al. 2012). Die genauen Zusammenhänge sind dabei jedoch noch unklar. Im Modell der HCR und LCR wurde in bisherigen Studien auf zellulärer Ebene gezeigt, dass im Laufe des ersten Lebensjahres bei LCR fortschreitende Umbauprozesse ablaufen und die mikrovaskuläre Perfusion des linken Ventrikels eingeschränkt ist (Ritchie et al. 2013). Außerdem wurde bei LCR, nicht aber bei HCR, im Alter von über 25 Monaten eine substantielle Abnahme der kontraktile Funktion des Herzens sowie der Funktion der Kardiomyozyten beschrieben (Koch et al. 2011, Koch et al. 2012). Diese Befunde lassen eine schlechtere Herzfunktion der LCR vermuten, die jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht gefunden wurden. Unerwartet unterschieden sich zwischen HCR und LCR weder die Funktion des Herzens, noch die Funktion oder Menge der kardialen Mitochondrien. Auch seneszente HCR zeigten keinen weiteren Funktionsverlust des Herzens oder der kardialen Mitochondrien. Dies lässt vermuten, dass die unterschiedliche intrinsische körperliche Leistungsfähigkeit im Alter – wie auch schon bei adulten Tieren – das Herz in vergleichbarer Weise beeinträchtigt. Man könnte ebenso vermuten, dass auch beim Menschen die intrinsische körperliche Leistungsfähigkeit keinen Einfluss auf das Herz mit höherem Alter

zeigt. Vielmehr könnte vermutlich die extrinsische Komponente, wie beispielsweise Training, eine Rolle spielen und die Herzfunktion unter Umständen verbessern. Insgesamt scheint das Herz keinen erkennbaren Grund für die unterschiedliche Lebensspanne der HCR und LCR zu liefern.

Neben dem Herzen und der Skelettmuskulatur ist auch die Funktion der Leber ein wesentlicher Faktor für das Altern und dessen Verlauf. Lebermitochondrien können nicht nur den hepatischen Metabolismus beeinflussen, sondern auch die Energieaufnahme und Substratnutzung des gesamten Körpers (Thyfault und Morris 2017). Sowohl im Menschen als auch bei Ratten nimmt im Alter die Menge und respiratorische Kapazität hepatischer Mitochondrien ab (Yen et al. 1989, Tauchi und Sato 1968, Stocco et al. 1977, Stocco und Hutson 1978). In der vorliegenden Arbeit wurden Einschränkungen in Lebermitochondrien mit zunehmendem Alter gefunden. Bei Weibchen war die Verminderung der Mitochondrienfunktion stärker als eine Verminderung der Mitochondrienmenge. Bei Männchen hingegen war dies umgekehrt. Somit war die Beeinträchtigung der Mitochondrien der Leber im Alter abhängig vom Geschlecht. Zwischen HCR und LCR gab es jedoch keine mitochondrialen Unterschiede im Alter. Die Morphologie der Leber änderte sich bei HCR stärker. Das Lebergewicht nahm – vermutlich durch Wassereinlagerung oder eine sich bildende Fettleber – mit zunehmendem Alter bei HCR deutlicher zu. Die Befunde lassen in der Gesamtheit vermuten, dass die Leber keine wesentliche Rolle für die unterschiedliche Lebensspanne der Tiere spielt.

Altern wird in vielen Organen nicht nur mit Veränderungen im Mitochondrienmetabolismus sondern auch einer erhöhten mitochondrialen ROS-Produktion in Verbindung gebracht. Eine erhöhte ROS-Produktion kann über oxidative Schäden zu einer Gewebedysfunktion führen (Kowald 2001). Vor allem im Herzen und Skelettmuskel wurde eine erhöhte mitochondriale ROS-Produktion mit höherem Alter gezeigt (Kuka et al. 2013, Boengler et al. 2017). Dabei wurde eine Abhängigkeit vom untersuchten Skelettmuskel und Muskelfasertyp (Hepple 2014), nicht aber vom Geschlecht (Keller und Howlett 2016) beschrieben. Allerdings gibt es auch gegenteilige Befunde. Hutter et al. fanden bei isolierten humanen Skelettmuskelfasern eine Abnahme der ROS-Produktion mit fortgeschrittenem Alter (Hutter et al. 2007). Picard et al. zeigten wiederum bei alten Ratten eine unveränderte ROS-Produktion in isolierten Fasern des Herzens (Picard et al. 2012). Die Gründe für die verschiedenen Befunde der Untersuchungen sind vielfältig. Die untersuchte Spezies, aber auch Untersuchungszeitpunkt sowie die Messmethoden variieren. Bei HCR und LCR nahm mit höherem Alter die

mitochondriale ROS-Produktion im Skelettmuskel ab und war unabhängig vom Geschlecht. Dies unterstützt die von Hutter et al. beschriebenen Befunde. Eine Abnahme war ebenfalls im Herzen und der Leber zu beobachten. Die Gesamtheit der Ergebnisse deutet darauf hin, dass Altern bei HCR und LCR nicht mit einer erhöhten mitochondrialen ROS-Produktion assoziiert ist.

In der Literatur wird kontrovers diskutiert, wie die mitochondriale Funktion und die mitochondriale ROS-Produktion zusammenhängen. Nach der mitochondrialen Theorie des Alterns sollen dysfunktionale Mitochondrien eine erhöhte ROS-Produktion bedingen. Eine verminderte mitochondriale Respiration im Alter kann mit einer erhöhten ROS-Produktion einhergehen (Cui et al. 2012). Es wird vermutet, dass Defekte in der Atmungskette zu einem Elektronenstau besonders an Komplex I und III führen können und folglich in einer vermehrten ROS-Produktion resultieren (Kowald 2001). Eine erhaltene mitochondriale Respiration ist wiederum mit einer verminderten ROS-Produktion im humanen Skelettmuskel assoziiert (Hutter et al. 2007). Eine erhaltene mitochondriale Respiration wurde allerdings auch in Verbindung mit einer erhöhten ROS-Produktion im Skelettmuskel von *Brown Norway* Ratten gezeigt (Chabi et al. 2008). Womit die unterschiedlichen Ergebnisse genau zusammenhängen, ist unklar. Bei HCR und LCR war sowohl im Herzen als auch im Skelettmuskel mit höherem Alter die mitochondriale Dysfunktion mit einer verminderten ROS-Produktion assoziiert. Damit im Einklang zeigten Gosh et al., dass im Skelettmuskel von Menschen mit zunehmendem Alter eine verminderte Substratoxidation und ATP-Produktion der Mitochondrien mit einer verminderten ROS-Produktion einherging. Sie folgerten daraus, dass zwar ein Funktionsverlust der Mitochondrien vorliegt, jedoch kein erhöhter Verlust der Elektronen während der Respiration auftritt. Weiterhin folgerten sie, dass die verminderte ROS-Produktion mit der verminderten ATP-Produktionsrate zu erklären ist (Ghosh et al. 2011). Es ist möglich, dass wie bei Ghosh et al. die verminderte ROS-Produktion bei HCR und LCR durch eine verminderte ATP-Produktionsrate bedingt ist. Insgesamt sprechen die Befunde im Modell der HCR und LCR gegen die mitochondriale Theorie des Alterns.

Es ist bekannt, dass ROS und der Calciumstoffwechsel miteinander verbunden sind. Eine erhöhte ROS-Produktion kann mit einer erhöhten Aufnahme von Calcium in die Mitochondrien einhergehen. Dies kann bei einem Übermaß zur Öffnung der MPTP und zum Zelltod führen (Görlach et al. 2015, Feno et al. 2019). Mit zunehmendem Alter wurde bereits bei Ratten im Herzen ein erhöhtes Calcium-induziertes Anschwellen von Mitochondrien und damit eine erhöhte Calciumsensitivität der MPTP gezeigt (Hunter et al. 2012, Paradies et al.

2013). Hunter et al. beschrieb parallel dazu eine Entkopplung der Mitochondrien (Hunter et al. 2012). Bei HCR und LCR war mit zunehmendem Alter vor allem im Skelettmuskel das Anschwellen der Mitochondrien vermindert und ging mit einer erhaltenen mitochondrialen Kopplung einher. Dies deutet ebenfalls auf ein Zusammenspiel von Mitochondrien, ROS und Calcium hin. Altern war somit bei HCR und LCR mit einer verminderten Calciumsensitivität der MPTP in Verbindung mit einer verminderten ROS-Produktion assoziiert.

Unabhängig von der mitochondrialen ROS-Produktion wird Altern mit erhöhten oxidativen Schäden im Gewebe in Verbindung gebracht. Viele Arbeiten finden übereinstimmend erhöhte Lipid- und Proteinschäden im Herzen und Skelettmuskel (Tatarkova et al. 2011, Keller und Howlett 2016, Pansarasa et al. 2000, Buonocore et al. 2011). Tartakova et al. vermuten, dass erhöhte oxidative Schäden mitverantwortlich für die Abnahme der mitochondrialen Funktion mit höherem Alter sind (Tatarkova et al. 2011). Das weibliche Geschlecht soll dabei vor Lipidschäden geschützt sein (Buonocore et al. 2011, Popkov et al. 2015). In der vorliegenden Arbeit konnte kein Unterschied zwischen den Geschlechtern gezeigt werden. Im Herzen und Skelettmuskel der HCR und LCR nahmen mit höherem Alter sowohl Protein- als auch Lipidschäden zu. Dies stützt die bisherigen Befunde aus anderen Rattenmodellen. Altern ging somit bei HCR und LCR mit erhöhtem oxidativen Stress einher, welcher mit der mitochondrialen Funktionsstörung assoziiert sein könnte. Auffällig war, dass im Herzen Protein- sowie Lipidschäden zunahmen, im Skelettmuskel hingegen nur Proteinschäden. Folglich scheint das Herz mit zunehmendem Alter anfälliger für oxidativen Stress zu sein.

Die erhöhten oxidativen Schäden waren bei HCR und LCR parallel zu der verminderten mitochondrialen ROS-Produktion zu beobachten. Es ist nun fraglich, wodurch die erhöhten oxidativen Schäden zustande kommen. Zum einen könnten von Mitochondrien unabhängige ROS beteiligt sein. Dazu zählen Enzyme wie die NADPH Oxidase und Proteinkinase bzw. verschiedene Proteinfamilien (Novo und Parola 2008, Correia-Melo und Passos 2015, Allison et al. 2014). Diese wurden in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Zum anderen könnte eine verminderte antioxidative Kapazität mit erhöhten oxidativen Schäden in Verbindung gebracht werden. In der Literatur wird vor allem im Herzen und Skelettmuskel eine erhöhte antioxidative Kapazität beschrieben (Phaneuf und Leeuwenburgh 2002, Leeuwenburgh et al. 1994, Oh-Ishi et al. 1995). In Abhängigkeit vom untersuchten Organ sind dabei verschiedene Enzymaktivitäten erhöht. Ji et al. fanden in 4 Monate jungen im Vergleich zu alten *Wistar-Furth* Ratten eine gleichzeitige Aktivitätserhöhung der SOD, der GPx sowie der Katalase im Skelettmuskel (Ji et al. 1990). Im Herzen wiederum wurde bei *Sprague Dawley* Ratten (Vertechy et al. 1989) und bei *Fischer x Brown Norway* Hybrid-Ratten (Picard et al. 2012)

nur eine Erhöhung der SOD beschrieben. Scheinbar können die Ergebnisse nicht auf den Menschen extrapoliert werden, da dort mit zunehmenden Alter keine Aktivitätserhöhungen antioxidativer Enzyme beschrieben wurden (Prasad 2016). In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass bei HCR und LCR mit höherem Alter die Aktivität der Katalase im Herzen und Skelettmuskel erhöht war, während die Aktivitäten der SOD und GPx unverändert blieben. Dabei war weiterhin auffällig, dass bei HCR und LCR die Erhöhung der Katalaseaktivität im Herzen nur weibliche Tieren zeigten. In einer Untersuchung von Dai et al. wurde beschrieben, dass eine Überexpression der Katalase das Auftreten der diastolischen Dysfunktion des Herzens verhindern kann (Dai et al. 2009). Tatsächlich ging bei weiblichen HCR und LCR die erhöhte Katalaseaktivität mit einem Erhalt der diastolischen Funktion einher. Insgesamt war Altern bei HCR und LCR mit einer Zunahme der antioxidativen Kapazität assoziiert. Zum einen könnte es sein, dass die erhöhte antioxidative Kapazität durch eine erhöhte Exposition von ROS (Liguori et al. 2018), die nichtmitochondrialer Herkunft sind, stimuliert wird. Zum anderen könnte es auch eine adaptive Antwort auf die im Alter erhöhten oxidativen Schäden im Gewebe sein. Scheinbar reicht jedoch die erhöhte Katalaseaktivität der HCR und LCR nicht aus, die oxidativen Schäden im Herzen und Skelettmuskel zu verhindern.

Altern war bei HCR und LCR mit einer verminderten mitochondrialen ROS-Produktion, einer erhöhten antioxidativen Kapazität sowie erhöhtem oxidativem Stress assoziiert. Dabei zeigten sich auch Unterschiede zwischen alten HCR und LCR. Im Herzen war bei alten LCR die mitochondriale ROS-Produktion tendenziell höher und im Skelettmuskel niedriger als bei HCR. Tweedie et al. zeigten im gleichen Modell ebenfalls eine geringere ROS-Produktion bei LCR im Skelettmuskel (Tweedie et al. 2011). In der vorliegenden Arbeit konnte zudem gezeigt werden, dass nur bei seneszenten HCR die mitochondriale ROS-Produktion stieg. Es wäre möglich, dass der leichte Anstieg der ROS-Produktion bei seneszenten HCR im Sinne einer Mitohormesis (Barcena et al. 2018) die antioxidative Kapazität stimuliert und oxidative Schäden verhindert. Die Gesamtheit der Befunde deutet darauf hin, dass die mitochondriale ROS-Produktion nicht mit der unterschiedlichen Lebensspanne der Tiere zusammenhängt.

Es wurde beschrieben, dass ältere Menschen, die durch Training eine höhere körperliche Leistungsfähigkeit aufwiesen, weniger anfällig für oxidative Schäden an Proteinen oder der DNA sind (Safdar et al. 2011, Parise et al. 2005). Dies konnte bei hoher intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit nicht gezeigt werden. Unerwartet zeigten alte HCR im Vergleich zu alten LCR sogar vermehrte Proteinschäden im Herzen. Somit scheinen oxidative

Lipid- oder Proteinschäden – beziehungsweise oxidativer Stress – ebenfalls keine eindeutige Rolle für die unterschiedliche Lebensspanne der Tiere zu spielen.

In einer Arbeit von Tweedie et al. wurde gezeigt, dass bei alten HCR im Vergleich zu LCR im roten Anteil des Gastrocnemius oxidative Schäden der DNA signifikant geringer sind. Dies war in Verbindung mit einer zwischen HCR und LCR vergleichbaren Aktivität der SOD und GPx zu beobachten (Tweedie et al. 2011). Oxidative Schäden der DNA wurden in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht, aber es wäre denkbar, dass die von Tweedie et al. beschriebenen Schäden im Herzen und im weißen Anteil des Gastrocnemius bei alten HCR im Vergleich zu alten LCR ebenso geringer sind und einen Hinweis für das längere Überleben geben. Im Einklang mit der Untersuchung von Tweedie et al. konnte gezeigt werden, dass sich die Aktivität der SOD und GPx bei alten HCR und alten LCR nicht unterscheidet. Die Aktivität der Katalase hingegen stieg bei alten HCR im Skelettmuskel deutlicher als bei alten LCR. Unabhängig von oxidativen Schäden zeigten Perez-Estrada et al., dass das Fehlen der Katalase die Lebensspanne reduzieren kann (Perez-Estrada et al. 2019). In Mäusen mit einer Überexpression der Katalaseaktivität im Herzen und Skelettmuskel wurde sogar eine längere Lebensspanne beschrieben (Cutler 2005). Dies lässt vermuten, dass die stärkere Erhöhung der Aktivität der Katalase (unabhängig von oxidativen Schäden) im Alter bei HCR mit der längeren Lebensspanne assoziiert ist.

Betrachtung methodischer Limitationen

Körperliche Leistungsfähigkeit besteht aus einer intrinsischen und einer extrinsischen Komponente, wobei der Anteil der intrinsischen auf bis zu 70 % eingeschätzt wird (Bouchard et al. 1986). Das Modell der HCR und LCR bietet die Möglichkeit, den Einfluss der intrinsischen Kapazität ohne extrinsische Einflüsse zu untersuchen. Damit können aus den vorliegenden Untersuchungen in Tieren mit hoher oder niedriger körperlicher Leistungsfähigkeit keine Rückschlüsse auf die extrinsische (durch Training erworbene) Leistungsfähigkeit gezogen werden. Die Untersuchungen in der Ratte und in diesem Modell mit einer Selektion über viele Generationen können zwar Hinweise auf den Einfluss von intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit beim Menschen geben, aber nicht notwendigerweise direkt auf den Menschen übertragen werden.

Die körperliche Leistungsfähigkeit ist ein starker Prädiktor für die Morbidität und Mortalität (Blaha et al. 2016). Durch die Durchführung von Lauftests auf einem Laufband kann die körperliche Leistungsfähigkeit valide ermittelt werden. Auf der Basis der Daten des Lauftests sowie der Feuchtgewichte der Muskeln kann allerdings nicht beurteilt werden, welche Rolle

die Kraftverhältnisse der Muskulatur bei einer Änderung der körperlichen Leistungsfähigkeit spielen.

Schlussfolgerung

Die kürzere Lebensspanne der LCR war mit einer früheren Beeinträchtigung der muskulären Mitochondrien assoziiert. Dies war mit einem geschlechtsspezifischen Mechanismus verbunden. Die mitochondriale Dysfunktion bei alten LCR ging mit einer verminderten ROS-Produktion einher und widerspricht somit dem Konzept der mitochondrialen Theorie des Alterns. Die bei HCR und LCR im Alter auftretende kardiale mitochondriale Dysfunktion war mit der kontraktilen Dysfunktion assoziiert. Das Herz, die Leber, mitochondriale ROS sowie oxidativer Stress lieferten keine Hinweise für die unterschiedliche Lebensspanne der Tiere.

Literatur- und Quellenverzeichnis

- Adams V, Linke A. 2019. Impact of exercise training on cardiovascular disease and risk. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1865 (4):728-734.
- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105:121-126.
- Akerman JP, Heckman GA, McKelvie RS. 2014. Exercise Capacity and Aging. *American Journal of Lifestyle Medicine*, 9 (4):252-265.
- Allison DB, Antoine LH, Ballinger SW, Bamman MM, Biga P, Darley-Usmar VM, Fisher G, Gohlke JM, Halade GV, Hartman JL, Hunter GR, Messina JL, Nagy TR, Plaisance EP, Powell ML, Roth KA, Sandel MW, Schwartz TS, Smith DL, Sweatt JD, Tollefsbol TO, Watts SA, Yang Y, Zhang J, Austad SN. 2014. Aging and energetics' 'Top 40' future research opportunities 2010-2013. *F1000Res*, 3:219.
- Alway SE, Mohamed JS, Myers MJ. 2017. Mitochondria Initiate and Regulate Sarcopenia. *Exercise and sport sciences reviews*, 45 (2):58-69.
- Andrikopoulos S, Blair AR, Deluca N, Fam BC, Proietto J. 2008. Evaluating the glucose tolerance test in mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295 (6):E1323-E1332.
- Arias EB, Gosselin LE, Cartee GD. 2001. Exercise Training Eliminates Age-Related Differences in Skeletal Muscle Insulin Receptor and IRS-1 Abundance in Rats. *The Journals of Gerontology: Series A*, 56 (10):B449-B455.
- Arking R. 2019. *Biology of Longevity and Aging: Pathways and Prospects*. OXFORD University Press.
- Barazzoni R, Nair KS. 2001. Changes in uncoupling protein-2 and -3 expression in aging rat skeletal muscle, liver, and heart. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 280 (3):E413-E419.
- Barcena C, Mayoral P, Quiros PM. 2018. Mitohormesis, an Antiaging Paradigm. *Int Rev Cell Mol Biol*, 340:35-77.
- Barja G. 2002. The quantitative measurement of H₂O₂ generation in isolated mitochondria. *J Bioenerg Biomembr*, 34 (3):227-233.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*, 5 (1):9-19.
- Blaha MJ, Hung RK, Dardari Z, Feldman DI, Whelton SP, Nasir K, Blumenthal RS, Brawner CA, Ehrman JK, Keteyian SJ, Al-Mallah MH. 2016. Age-dependent prognostic value of exercise capacity and derivation of fitness-associated biologic age. *Heart*, 102 (6):431-437.
- Boengler K, Kosiol M, Mayr M, Schulz R, Rohrbach S. 2017. Mitochondria and ageing: role in heart, skeletal muscle and adipose tissue. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 8 (3):349-369.
- Bouchard C, Lesage R, Lortie G, Simoneau JA, Hamel P, Boulay MR, Perusse L, Theriault G, Leblanc C. 1986. Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. *Med Sci Sports Exerc*, 18 (6):639-646.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72:248-254.
- Brand Martin D, Nicholls David G. 2011. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochemical Journal*, 435 (Pt 2):297-312.
- Bronikowski AM, Carter PA, Morgan TJ, T. Garland J, Ung N, Pugh TD, Weindruch R, Prolla TA. 2003. Lifelong voluntary exercise in the mouse prevents age-related alterations in gene expression in the heart. *Physiological Genomics*, 12 (2):129-138.

- Buck T, Breithardt O-A, Faber L, Fehske W, Flachskampf FA, Franke A, Hagendorff A, Hoffmann R, Kruck I, Kücherer H. 2009. Manual zur indikation und durchführung der echokardiographie. *Clinical research in cardiology supplements*, 4 (1):3-51.
- Buonocore D, Rucci S, Vandoni M, Negro M, Marzatico F. 2011. Oxidative system in aged skeletal muscle. *Muscles Ligaments Tendons J*, 1 (3):85-90.
- Calvani R, Joseph A-M, Adhietty PJ, Miccheli A, Bossola M, Leeuwenburgh C, Bernabei R, Marzetti E. 2013. Mitochondrial pathways in sarcopenia of aging and disuse muscle atrophy. *Biological chemistry*, 394 (3):393-414.
- Chabi B, Ljubicic V, Menzies KJ, Huang JH, Saleem A, Hood DA. 2008. Mitochondrial function and apoptotic susceptibility in aging skeletal muscle. *Aging cell*, 7 (1):2-12.
- Chance B, Williams GR. 1955. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen utilization. *The Journal of biological chemistry*, 217 (1):383-393.
- Chisari C, Bresci M, Licitra R, Stampacchia G, Rossi B. 2002. A functional study of oxidative muscle efficiency in older people. *Basic Appl Myol*, 12 (5):209-212.
- Clark LC, Wolf R, Granger D, Taylor Z. 1953. Continuous Recording of Blood Oxygen Tensions by Polarography. *Journal of Applied Physiology*, 6 (3):189-193.
- Coen PM, Jubrias SA, Distefano G, Amati F, Mackey DC, Glynn NW, Manini TM, Wohlgemuth SE, Leeuwenburgh C, Cummings SR, Newman AB, Ferrucci L, Toledo FG, Shankland E, Conley KE, Goodpaster BH. 2013. Skeletal muscle mitochondrial energetics are associated with maximal aerobic capacity and walking speed in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 68 (4):447-455.
- Coggan AR, Spina RJ, King DS, Rogers MA, Brown M, Nemeth PM, Holloszy JO. 1992. Histochemical and enzymatic comparison of the gastrocnemius muscle of young and elderly men and women. *J Gerontol*, 47 (3):B71-76.
- Correia-Melo C, Passos JF. 2015. Mitochondria: Are they causal players in cellular senescence? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1847 (11):1373-1379.
- Cui H, Kong Y, Zhang H. 2012. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. *J Signal Transduct*, 2012:646354.
- Cutler RG. 2005. Oxidative stress and aging: catalase is a longevity determinant enzyme. *Rejuvenation Res*, 8 (3):138-140.
- Dabkowski ER, Williamson CL, Bukowski VC, Chapman RS, Leonard SS, Peer CJ, Callery PS, Hollander JM. 2009. Diabetic cardiomyopathy-associated dysfunction in spatially distinct mitochondrial subpopulations. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*, 296 (2):H359-369.
- Dai DF, Santana LF, Vermulst M, Tomazela DM, Emond MJ, MacCoss MJ, Gollahon K, Martin GM, Loeb LA, Ladiges WC. 2009. Overexpression of catalase targeted to mitochondria attenuates murine cardiac aging. *Circulation*, 119 (21):2789.
- Dai DF, Rabinovitch PS, Ungvari Z. 2012. Mitochondria and cardiovascular aging. *Circ Res*, 110 (8):1109-1124.
- Demontis F, Piccirillo R, Goldberg AL, Perrimon N. 2013. The influence of skeletal muscle on systemic aging and lifespan. *Aging cell*, 12 (6):943-949.
- Distefano G, Standley RA, Zhang X, Carnero EA, Yi F, Cornnell HH, Coen PM. 2018. Physical activity unveils the relationship between mitochondrial energetics, muscle quality, and physical function in older adults. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 9 (2):279-294.
- Dizdaroglu M. 1992. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat Res*, 275 (3-6):331-342.
- Doria E, Buonocore D, Focarelli A, Marzatico F. 2012. Relationship between human aging muscle and oxidative system pathway. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012:830257-830257.

- Egan B, Zierath JR. 2013. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab*, 17 (2):162-184.
- Escobales N, Nunez RE, Jang S, Parodi-Rullan R, Ayala-Pena S, Sacher JR, Skoda EM, Wipf P, Frontera W, Javadov S. 2014. Mitochondria-targeted ROS scavenger improves post-ischemic recovery of cardiac function and attenuates mitochondrial abnormalities in aged rats. *J Mol Cell Cardiol*, 77:136-146.
- Estabrook RW. 1967. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP : O ratios. *Methods in Enzymology*. Academic Press, 41-47.
- Fannin SW, Lesnfsky EJ, Slabe TJ, Hassan MO, Hoppel CL. 1999. Aging Selectively Decreases Oxidative Capacity in Rat Heart Interfibrillar Mitochondria. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 372 (2):399-407.
- Feno S, Butera G, Vecellio Reane D, Rizzuto R, Raffaello A. 2019. Crosstalk between Calcium and ROS in Pathophysiological Conditions. *Oxid Med Cell Longev*, 2019:9324018.
- Fischer KE, Riddle NC. 2018. Sex Differences in Aging: Genomic Instability. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*, 73 (2):166-174.
- Fletcher GF, Ades PA, Kligfield P, Arena R, Balady GJ, Bittner VA, Coke LA, Fleg JL, Forman DE, Gerber TC, Gulati M, Madan K, Rhodes J, Thompson PD, Williams MA. 2013. Exercise Standards for Testing and Training. *Circulation*, 128 (8):873-934.
- Garratt M. 2019. Why do sexes differ in lifespan extension? Sex-specific pathways of aging and underlying mechanisms for dimorphic responses. *Nutrition and Healthy Aging*, (Preprint):1-13.
- Gebhard C, Stahli BE, Gebhard CE, Tasnady H, Zihler D, Wischnowsky MB, Jenni R, Tanner FC. 2013. Age- and gender-dependent left ventricular remodeling. *Echocardiography*, 30 (10):1143-1150.
- Ghosh S, Lertwattanak R, Lefort N, Molina-Carrion M, Joya-Galeana J, Bowen BP, Garduno-Garcia Jde J, Abdul-Ghani M, Richardson A, DeFronzo RA, Mandarino L, Van Remmen H, Musi N. 2011. Reduction in reactive oxygen species production by mitochondria from elderly subjects with normal and impaired glucose tolerance. *Diabetes*, 60 (8):2051-2060.
- Gnaiger E. 2014. Mitochondrial Pathways and Respiratory Control: An Introduction to OXPHOS Analysis ; Mitochondr Physiol Network 19.12. Oroboros Instruments.
- Gonzalez NC, Kirkton SD, Howlett RA, Britton SL, Koch LG, Wagner HE, Wagner PD. 2006. Continued divergence in VO₂max of rats artificially selected for running endurance is mediated by greater convective blood O₂ delivery. *J Appl Physiol* (1985), 101 (5):1288-1296.
- Görlach A, Bertram K, Hudecova S, Krizanova O. 2015. Calcium and ROS: A mutual interplay. *Redox Biology*, 6:260-271.
- Gremeaux V, Gayda M, Lepers R, Sosner P, Juneau M, Nigam A. 2012. Exercise and longevity. *Maturitas*, 73 (4):312-317.
- Grubbs FE. 1950. Sample Criteria for Testing Outlying Observations. 27-58.
- Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, Hagve M, Khalid AM, Wisloff U, Larsen TS, Aasum E. 2011. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. *J Appl Physiol* (1985), 111 (5):1235-1241.
- Harman D. 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, 11 (3):298-300.
- Harman D. 1972. The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatr Soc*, 20 (4):145-147.
- Hepple RT. 2014. Mitochondrial Involvement and Impact in Aging Skeletal Muscle. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6 (211).
- Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. 1993. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol*, 22 (4 Suppl A):6a-13a.

- Hollander JM, Thapa D, Shepherd DL. 2014. Physiological and structural differences in spatially distinct subpopulations of cardiac mitochondria: influence of cardiac pathologies. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 307 (1):H1-H14.
- Holloszy JO, Kohrt WM, Hansen PA. 1998. The regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. *Front Biosci*, 3:D1011-1027.
- Holmuhamedov EL, Oberlin A, Short K, Terzic A, Jahangir A. 2012. Cardiac Subsarcolemmal and Interfibrillar Mitochondria Display Distinct Responsiveness to Protection by Diazoxide. *PLOS ONE*, 7 (9):e44667.
- Hoppeler H. 1986. Exercise-induced ultrastructural changes in skeletal muscle. *Int J Sports Med*, 7 (4):187-204.
- Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. 2007. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 14 (6):753-760.
- Huertas JR, Casuso RA, Agustin PH, Cogliati S. 2019. Stay Fit, Stay Young: Mitochondria in Movement: The Role of Exercise in the New Mitochondrial Paradigm. *Oxid Med Cell Longev*, 2019:7058350.
- Hunter JC, Machikas AM, Korzick DH. 2012. Age-dependent reductions in mitochondrial respiration are exacerbated by calcium in the female rat heart. *Gender medicine*, 9 (3):197-206.
- Hussain SO, Barbato JC, Koch LG, Metting PJ, Britton SL. 2001. Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 281 (6):R1787-1791.
- Hutter E, Skovbro M, Lener B, Prats C, Rabol R, Dela F, Jansen-Durr P. 2007. Oxidative stress and mitochondrial impairment can be separated from lipofuscin accumulation in aged human skeletal muscle. *Aging Cell*, 6 (2):245-256.
- Jakovljevic DG. 2018. Physical activity and cardiovascular aging: Physiological and molecular insights. *Experimental Gerontology*, 109:67-74.
- Ji LL, Dillon D, Wu E. 1990. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. *Am J Physiol*, 258 (4 Pt 2):R918-923.
- Johnson FB, Sinclair DA, Guarente L. 1999. Molecular Biology of Aging. *Cell*, 96 (2):291-302.
- Joseph A-M, Adihetty PJ, Buford TW, Wohlgemuth SE, Lees HA, Nguyen LM-D, Aranda JM, Sandesara BD, Pahor M, Manini TM, Marzetti E, Leeuwenburgh C. 2012. The impact of aging on mitochondrial function and biogenesis pathways in skeletal muscle of sedentary high- and low-functioning elderly individuals. *Aging Cell*, 11 (5):801-809.
- Judge S, Jang YM, Smith A, Selman C, Phillips T, Speakman JR, Hagen T, Leeuwenburgh C. 2005. Exercise by lifelong voluntary wheel running reduces subsarcolemmal and interfibrillar mitochondrial hydrogen peroxide production in the heart. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 289 (6):R1564-1572.
- Karvinen SM, Silvennoinen M, Ma H, Törmäkangas T, Rantalainen T, Rinnankoski-Tuikka R, Lensu S, Koch LG, Britton SL, Kainulainen H. 2016. Voluntary Running Aids to Maintain High Body Temperature in Rats Bred for High Aerobic Capacity. *Frontiers in Physiology*, 7:311.
- Kates AM, Herrero P, Dence C, Soto P, Srinivasan M, Delano DG, Ehsani A, Gropler RJ. 2003. Impact of aging on substrate metabolism by the human heart. *J Am Coll Cardiol*, 41 (2):293-299.
- Keller KM, Howlett SE. 2016. Sex Differences in the Biology and Pathology of the Aging Heart. *Canadian Journal of Cardiology*, 32 (9):1065-1073.

- Kerner J, Turkaly PJ, Minkler PE, Hoppel CL. 2001. Aging skeletal muscle mitochondria in the rat: decreased uncoupling protein-3 content. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 281 (5):E1054-E1062.
- Keshel TE, Coker RH. 2015. Exercise Training and Insulin Resistance: A Current Review. *Journal of obesity & weight loss therapy*, 5 (Suppl 5):S5-003.
- Khairallah RJ, Sparagna GC, Khanna N, O'Shea KM, Hecker PA, Kristian T, Fiskum G, Des Rosiers C, Polster BM, Stanley WC. 2010. Dietary supplementation with docosahexaenoic acid, but not eicosapentaenoic acid, dramatically alters cardiac mitochondrial phospholipid fatty acid composition and prevents permeability transition. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1797 (8):1555-1562.
- Kim IH, Kisseleva T, Brenner DA. 2015. Aging and liver disease. *Current opinion in gastroenterology*, 31 (3):184-191.
- Koch LG, Britton SL. 2001. Artificial selection for intrinsic aerobic endurance running capacity in rats. *Physiol Genomics*, 5 (1):45-52.
- Koch LG, Britton SL, Wisløff U. 2012. A Rat Model System to Study Complex Disease Risks, Fitness, Aging, and Longevity. *Trends in cardiovascular medicine*, 22 (2):29-34.
- Koch LG, Kemi OJ, Qi N, Leng SX, Bijma P, Gilligan LJ, Wilkinson JE, Wisløff H, Høydal MA, Rolim N, Abadir PM, van Grevenhof EM, Smith GL, Burant CF, Ellingsen Ø, Britton SL, Wisløff U. 2011. Intrinsic Aerobic Capacity Sets a Divide for Aging and Longevity. *Circulation Research*, 109 (10):1162-1172.
- Kokkinos P. 2012. Physical activity, health benefits, and mortality risk. *ISRN cardiology*, 2012:718789-718789.
- Kowald A. 2001. The mitochondrial theory of aging. *Biol Signals Recept*, 10 (3-4):162-175.
- Kujala UM, Kaprio J, Koskenvuo M. 2002. Modifiable risk factors as predictors of all-cause mortality: the roles of genetics and childhood environment. *Am J Epidemiol*, 156 (11):985-993.
- Kuka S, Tatarkova Z, Racay P, Lehotsky J, Dobrota D, Kaplan P. 2013. Effect of aging on formation of reactive oxygen species by mitochondria of rat heart. *Gen Physiol Biophys*, 32 (3):415-420.
- Kurian GA, Rajagopal R, Vedantham S, Rajesh M. 2016. The Role of Oxidative Stress in Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury and Remodeling: Revisited. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016:1656450-1656450.
- Lakatta EG, Sollott SJ. 2002. Perspectives on mammalian cardiovascular aging: humans to molecules. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 132 (4):699-721.
- Lanza IR, Nair KS. 2010. Mitochondrial function as a determinant of life span. *Pflugers Archiv*, 459 (2):277-289.
- LeDoux SP, Wilson GL, Beecham EJ, Stevnsner T, Wassermann K, Bohr VA. 1992. Repair of mitochondrial DNA after various types of DNA damage in Chinese hamster ovary cells. *Carcinogenesis*, 13 (11):1967-1973.
- Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT. 2012. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *The Lancet*, 380 (9838):219-229.
- Lee SJ, Hwang AB, Kenyon C. 2010. Inhibition of respiration extends *C. elegans* life span via reactive oxygen species that increase HIF-1 activity. *Curr Biol*, 20 (23):2131-2136.
- Leeuwenburgh C, Fiebig R, Chandwaney R, Ji LL. 1994. Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. *Am J Physiol*, 267 (2 Pt 2):R439-445.
- Lehninger AL. 1951. Phosphorylation coupled to oxidation of dihydrodiphosphopyridine nucleotide. *J Biol Chem*, 190 (1):345-359.

- Lemieux H, Vazquez EJ, Fujioka H, Hoppel CL. 2010. Decrease in Mitochondrial Function in Rat Cardiac Permeabilized Fibers Correlates With the Aging Phenotype. *The Journals of Gerontology: Series A*, 65A (11):1157-1164.
- LeMoine CM, McClelland GB, Lyons CN, Mathieu-Costello O, Moyes CD. 2006. Control of mitochondrial gene expression in the aging rat myocardium. *Biochem Cell Biol*, 84 (2):191-198.
- Lesnefsky EJ, Chen Q, Hoppel CL. 2016. Mitochondrial Metabolism in Aging Heart. *Circulation research*, 118 (10):1593-1611.
- Liang H, Ward WF. 2006. PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism. *Adv Physiol Educ*, 30 (4):145-151.
- Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. 2018. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13:757-772.
- Liu CJ, Latham NK. 2009. Progressive resistance strength training for improving physical function in older adults. *Cochrane Database Syst Rev*, (3):Cd002759.
- Lutz W, Sanderson W, Scherbov S. 2008. The coming acceleration of global population ageing. *Nature*, 451 (7179):716-719.
- Mahmood T, Yang PC. 2012. Western blot: technique, theory, and trouble shooting. *N Am J Med Sci*, 4 (9):429-434.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*, 47 (3):469-474.
- Marzetti E, Calvani R, Cesari M, Buford TW, Lorenzi M, Behnke BJ, Leeuwenburgh C. 2013. Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging: from signaling pathways to clinical trials. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 45 (10):2288-2301.
- Mc Namara K, Alzubaidi H, Jackson JK. 2019. Cardiovascular disease as a leading cause of death: how are pharmacists getting involved? *Integrated pharmacy research & practice*, 8:1-11.
- McMillin JB, Taffet GE, Taegtmeier H, Hudson EK, Tate CA. 1993. Mitochondrial metabolism and substrate competition in the aging Fischer rat heart. *Cardiovasc Res*, 27 (12):2222-2228.
- Merz AA, Cheng S. 2016. Sex differences in cardiovascular ageing. *Heart (British Cardiac Society)*, 102 (11):825-831.
- Miwa S, Brand MD. 2005. The topology of superoxide production by complex III and glycerol 3-phosphate dehydrogenase in *Drosophila* mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1709 (3):214-219.
- Mlekusch W, Tillian H, Lamprecht M, Trutnovsky H, Horejsi R, Reibnegger G. 1996. The effect of reduced physical activity on longevity of mice. *Mech Ageing Dev*, 88 (3):159-168.
- Montaigne D, Marechal X, Coisne A, Debry N, Modine T, Fayad G, Potelle C, El Arid JM, Mouton S, Sebti Y, Duez H, Preau S, Remy-Jouet I, Zerimech F, Koussa M, Richard V, Nevriere R, Edme JL, Lefebvre P, Staels B. 2014. Myocardial contractile dysfunction is associated with impaired mitochondrial function and dynamics in type 2 diabetic but not in obese patients. *Circulation*, 130 (7):554-564.
- Morris EM, Meers GME, Rueggsegger GN, Wankhade UD, Robinson T, Koch LG, Britton SL, Rector RS, Shankar K, Thyfault JP. 2019. Intrinsic High Aerobic Capacity in Male Rats Protects Against Diet-Induced Insulin Resistance. *Endocrinology*, 160 (5):1179-1192.

- Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, Atwood JE. 2002. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med*, 346 (11):793-801.
- Neder JA, Nery LE, Silva AC, Andreoni S, Whipp BJ. 1999. Maximal aerobic power and leg muscle mass and strength related to age in non-athletic males and females. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 79 (6):522-530.
- Newgard CB, Sharpless NE. 2013. Coming of age: molecular drivers of aging and therapeutic opportunities. *J Clin Invest*, 123 (3):946-950.
- Niccoli T, Partridge L. 2012. Ageing as a Risk Factor for Disease. *Current Biology*, 22 (17):R741-R752.
- Noland RC, Thyfault JP, Henes ST, Whitfield BR, Woodlief TL, Evans JR, Lust JA, Britton SL, Koch LG, Dudek RW, Dohm GL, Cortright RN, Lust RM. 2007. Artificial selection for high-capacity endurance running is protective against high-fat diet-induced insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293 (1):E31-41.
- North BJ, Sinclair DA. 2012. The intersection between aging and cardiovascular disease. *Circulation research*, 110 (8):1097-1108.
- Novo E, Parola M. 2008. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis & tissue repair*, 1 (1):5-5.
- Oh-Ishi S, Kizaki T, Yamashita H, Nagata N, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. 1995. Alterations of superoxide dismutase iso-enzyme activity, content, and mRNA expression with aging in rat skeletal muscle. *Mech Ageing Dev*, 84 (1):65-76.
- Onkelinx S, Cornelissen V, Defoor J, Matthijs G, Thomaes T, Coeckelberghs E, Buys R, Schepers D, Fagard R, Vanhees L. 2011. The CAREGENE study: genetic variants of the endothelium and aerobic power in patients with coronary artery disease. *Acta Cardiol*, 66 (4):407-414.
- Ostojic Sergej M. 2016. Exercise-induced mitochondrial dysfunction: a myth or reality? *Clinical Science*, 130 (16):1407-1416.
- Overmyer KA, Evans CR, Qi NR, Minogue CE, Carson JJ, Chermide-Scabbo CJ, Koch LG, Britton SL, Pagliarini DJ, Coon JJ, Burant CF. 2015. Maximal oxidative capacity during exercise is associated with skeletal muscle fuel selection and dynamic changes in mitochondrial protein acetylation. *Cell metabolism*, 21 (3):468-478.
- Paglia DE, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 70 (1):158-169.
- Palmer JW, Tandler B, Hoppel CL. 1977. Biochemical properties of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria isolated from rat cardiac muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 252 (23):8731-8739.
- Pansarasa O, Castagna L, Colombi B, Vecchiet J, Felzani G, Marzatico F. 2000. Age and sex differences in human skeletal muscle: role of reactive oxygen species. *Free Radic Res*, 33 (3):287-293.
- Papa EV, Dong X, Hassan M. 2017. Resistance training for activity limitations in older adults with skeletal muscle function deficits: a systematic review. *Clin Interv Aging*, 12:955-961.
- Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, Petrosillo G. 2013. Changes in the mitochondrial permeability transition pore in aging and age-associated diseases. *Mech Ageing Dev*, 134 (1-2):1-9.
- Parise G, Brose AN, Tarnopolsky MA. 2005. Resistance exercise training decreases oxidative damage to DNA and increases cytochrome oxidase activity in older adults. *Exp Gerontol*, 40 (3):173-180.
- Pastoris O, Boschi F, Verri M, Baiardi P, Felzani G, Vecchiet J, Dossena M, Catapano M. 2000. The effects of aging on enzyme activities and metabolite concentrations in

- skeletal muscle from sedentary male and female subjects. *Exp Gerontol*, 35 (1):95-104.
- Perez-Estrada JR, Hernandez-Garcia D, Leyva-Castro F, Ramos-Leon J, Cuevas-Benitez O, Diaz-Munoz M, Castro-Obregon S, Ramirez-Solis R, Garcia C, Covarrubias L. 2019. Reduced lifespan of mice lacking catalase correlates with altered lipid metabolism without oxidative damage or premature aging. *Free Radic Biol Med*, 135:102-115.
- Peterson CM, Johannsen DL, Ravussin E. 2012. Skeletal muscle mitochondria and aging: a review. *Journal of aging research*, 2012:194821-194821.
- Petrosillo G, Matera M, Moro N, Ruggiero FM, Paradies G. 2009. Mitochondrial complex I dysfunction in rat heart with aging: critical role of reactive oxygen species and cardiolipin. *Free radical biology & medicine*, 46 (1):88-94.
- Phaneuf S, Leeuwenburgh C. 2002. Cytochrome c release from mitochondria in the aging heart: a possible mechanism for apoptosis with age. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 282 (2):R423-R430.
- Picard M, Wright KJ, Ritchie D, Thomas MM, Hepple RT. 2012. Mitochondrial function in permeabilized cardiomyocytes is largely preserved in the senescent rat myocardium. *PLoS One*, 7 (8):e43003.
- Popkov VA, Plotnikov EY, Silachev DN, Zorova LD, Pevzner IB, Jankauskas SS, Zorov SD, Babenko VA, Zorov DB. 2015. Diseases and Aging: Gender Matters. *Biochemistry (Mosc)*, 80 (12):1560-1570.
- Prasad KN. 2016. *Micronutrients in Health and Disease*. CRC Press.
- Preedy VR, Adachi J, Ueno Y, Ahmed S, Mantle D, Mullatti N, Rajendram R, Peters TJ. 2001. Alcoholic skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis. *Eur J Neurol*, 8 (6):677-687.
- Puchowicz MA, Varnes ME, Cohen BH, Friedman NR, Kerr DS, Hoppel CL. 2004. Oxidative phosphorylation analysis: assessing the integrated functional activity of human skeletal muscle mitochondria—case studies. *Mitochondrion*, 4 (5–6):377-385.
- Quinlan CL, Orr AL, Perevoshchikova IV, Treberg JR, Ackrell BA, Brand MD. 2012. Mitochondrial Complex II Can Generate Reactive Oxygen Species at High Rates in Both the Forward and Reverse Reactions. *The Journal of Biological Chemistry*, 287 (32):27255-27264.
- Regitz-Zagrosek V, Kararigas G. 2017. Mechanistic Pathways of Sex Differences in Cardiovascular Disease. *Physiol Rev*, 97 (1):1-37.
- Ren Y-y, Overmyer KA, Qi NR, Treutelaar MK, Heckenkamp L, Kalahar M, Koch LG, Britton SL, Burant CF, Li JZ. 2013. Genetic Analysis of a Rat Model of Aerobic Capacity and Metabolic Fitness. *PLoS ONE*, 8 (10):e77588.
- Reznick AZ, Packer L. 1994. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol*, 233:357-363.
- Ristow M. 2014. Unraveling the truth about antioxidants: mitohormesis explains ROS-induced health benefits. *Nat Med*, 20 (7):709-711.
- Ritchie RH, Leo CH, Qin C, Stephenson EJ, Bowden MA, Buxton KD, Lessard SJ, Rivas DA, Koch LG, Britton SL, Hawley JA, Woodman OL. 2013. Low intrinsic exercise capacity in rats predisposes to age-dependent cardiac remodeling independent of macrovascular function. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 304 (5):H729-H739.
- Romanello V, Guadagnin E, Gomes L, Roder I, Sandri C, Petersen Y, Milan G, Masiero E, Del Piccolo P, Foretz M, Scorrano L, Rudolf R, Sandri M. 2010. Mitochondrial fission and remodelling contributes to muscle atrophy. *The EMBO journal*, 29 (10):1774-1785.
- Roubenoff R. 2000. Sarcopenia and its implications for the elderly. *Eur J Clin Nutr*, 54 Suppl 3:S40-47.

- Safdar A, Bourgeois JM, Ogborn DI, Little JP, Hettinga BP, Akhtar M, Thompson JE, Melov S, Mocellin NJ, Kujoth GC, Prolla TA, Tarnopolsky MA. 2011. Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 (10):4135-4140.
- Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. 1978. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation*, 58 (6):1072-1083.
- Salisbury D, Bronas U. 2015. Reactive oxygen and nitrogen species: impact on endothelial dysfunction. *Nurs Res*, 64 (1):53-66.
- Schenkl C. 2018. Einfluss genetischer Prädisposition für hohe und niedrige Ausdauerkapazität auf Herzleistung, Mitochondrienfunktion und Insulinempfindlichkeit bei Drucküberlastung in der Ratte Jena.
- Schiaffino S, Dyar KA, Ciciliot S, Blaauw B, Sandri M. 2013. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *Febs j*, 280 (17):4294-4314.
- Schwarzer M, Britton SL, Koch LG, Wisloff U, Doenst T. 2010. Low Intrinsic Aerobic Exercise Capacity and Systemic Insulin Resistance are not Associated with Changes in Myocardial Substrate Oxidation or Insulin Sensitivity. *Basic research in cardiology*, 105 (3):357-364.
- Schwarzer M, Schrepper A, Amorim PA, Osterholt M, Doenst T. 2013. Pressure overload differentially affects respiratory capacity in interfibrillar and subsarcolemmal mitochondria. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 304 (4):H529-H537.
- Seifert EL, Bastianelli M, Aguer C, Moffat C, Estey C, Koch LG, Britton SL, Harper M-E. 2012. Intrinsic aerobic capacity correlates with greater inherent mitochondrial oxidative and H₂O₂ emission capacities without major shifts in myosin heavy chain isoform. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*, 113 (10):1624-1634.
- Seo AY, Joseph A-M, Dutta D, Hwang JCY, Aris JP, Leeuwenburgh C. 2010. New insights into the role of mitochondria in aging: mitochondrial dynamics and more. *Journal of Cell Science*, 123 (15):2533.
- Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Nair KS. 2004. Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 286 (1):E92-101.
- Short KR, Bigelow ML, Kahl J, Singh R, Coenen-Schimke J, Raghavakaimal S, Nair KS. 2005. Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102 (15):5618-5623.
- Souza RWA, Alves CRR, Medeiros A, Rolim N, Silva GJJ, Moreira JBN, Alves MN, Wohlwend M, Gebriel M, Hagen L, Sharma A, Koch LG, Britton SL, Slupphaug G, Wisløff U, Brum PC. 2018. Differential regulation of cysteine oxidative post-translational modifications in high and low aerobic capacity. *Scientific reports*, 8 (1):17772-17772.
- Srere P. 1969. [1] Citrate synthase:[EC 4.1. 3.7. Citrate oxaloacetate-lyase (CoA-acetylating)]. *Methods in enzymology*. Elsevier, 3-11.
- Stocco DM, Hutson JC. 1978. Quantitation of mitochondrial DNA and protein in the liver of Fischer 344 rats during aging. *J Gerontol*, 33 (6):802-809.
- Stocco DM, Cascarano J, Wilson MA. 1977. Quantitation of mitochondrial DNA, RNA, and protein in starved and starved-refed rat liver. *J Cell Physiol*, 90 (2):295-306.
- Stuart JA, Maddalena LA, Merilovich M, Robb EL. 2014. A midlife crisis for the mitochondrial free radical theory of aging. *Longev Healthspan*, 3 (1):4.
- Suh JH, Heath S-H, Hagen TM. 2003. Two subpopulations of mitochondria in the aging rat heart display heterogenous levels of oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 35 (9):1064-1072.

- Sun N, Youle RJ, Finkel T. 2016. The Mitochondrial Basis of Aging. *Molecular cell*, 61 (5):654-666.
- Takasawa M, Hayakawa M, Sugiyama S, Hattori K, Ito T, Ozawa T. 1993. Age-associated damage in mitochondrial function in rat hearts. *Exp Gerontol*, 28 (3):269-280.
- Tappel AL. 1978. Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Methods in enzymology*, 52:506-513.
- Tatarkova Z, Kuka S, Racay P, Lehotsky J, Dobrota D, Mistuna D, Kaplan P. 2011. Effects of aging on activities of mitochondrial electron transport chain complexes and oxidative damage in rat heart. *Physiol Res*, 60 (2):281-289.
- Tauch H, Sato T. 1968. Age changes in size and number of mitochondria of human hepatic cells. *J Gerontol*, 23 (4):454-461.
- Thyfault JP, Morris EM. 2017. Intrinsic (Genetic) Aerobic Fitness Impacts Susceptibility for Metabolic Disease. *Exercise and sport sciences reviews*, 45 (1):7-15.
- Thyfault JP, Rector RS, Uptergrove GM, Borengasser SJ, Morris EM, Wei Y, Laye MJ, Burant CF, Qi NR, Ridenhour SE, Koch LG, Britton SL, Ibdah JA. 2009. Rats selectively bred for low aerobic capacity have reduced hepatic mitochondrial oxidative capacity and susceptibility to hepatic steatosis and injury. *The Journal of Physiology*, 587 (8):1805-1816.
- Tocchi A, Quarles EK, Basisty N, Gitari L, Rabinovitch PS. 2015. Mitochondrial dysfunction in cardiac aging. *Biochim Biophys Acta*, 1847 (11):1424-1433.
- Torma F, Koltai E, Nagy E, Ziaaldini MM, Posa A, Koch LG, Britton SL, Boldogh I, Radak Z. 2014. Exercise Increases Markers of Spermatogenesis in Rats Selectively Bred for Low Running Capacity. *PloS one*, 9 (12):e114075-e114075.
- Towbin H, Staehelin T, Gordon J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 76 (9):4350-4354.
- Tower J. 2015. Mitochondrial maintenance failure in aging and role of sexual dimorphism. *Archives of biochemistry and biophysics*, 576:17-31.
- Tweedie C, Romestaing C, Burelle Y, Safdar A, Tarnopolsky MA, Seadon S, Britton SL, Koch LG, Hepple RT. 2011. Lower oxidative DNA damage despite greater ROS production in muscles from rats selectively bred for high running capacity. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 300 (3):R544-R553.
- Vertechy M, Cooper MB, Ghirardi O, Ramacci MT. 1989. Antioxidant enzyme activities in heart and skeletal muscle of rats of different ages. *Experimental Gerontology*, 24 (3):211-218.
- Viidik A, Nielsen HM, Skalicky M. 1996. Influence of physical exercise on aging rats: II. Life-long exercise delays aging of tail tendon collagen. *Mechanisms of Ageing and Development*, 88 (3):139-148.
- von Haehling S, Morley JE, Anker SD. 2010. An overview of sarcopenia: facts and numbers on prevalence and clinical impact. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 1 (2):129-133.
- Votion D-M, Gnaiger E, Lemieux H, Mouithys-Mickalad A, Serteyn D. 2012. Physical Fitness and Mitochondrial Respiratory Capacity in Horse Skeletal Muscle. *PLoS ONE*, 7 (4):e34890.
- Walsh B, Hooks RB, Hornyak JE, Koch LG, Britton SL, Hogan MC. 2006. Enhanced mitochondrial sensitivity to creatine in rats bred for high aerobic capacity. *J Appl Physiol* (1985), 100 (6):1765-1769.
- Wehr NB, Levine RL. 2013. Quantification of protein carbonylation. *Methods Mol Biol*, 965:265-281.

- Wenz T, Rossi SG, Rotundo RL, Spiegelman BM, Moraes CT. 2009. Increased muscle PGC-1alpha expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106 (48):20405-20410.
- Weydert CJ, Cullen JJ. 2010. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc*, 5 (1):51-66.
- Wilkinson DJ, Piasecki M, Atherton PJ. 2018. The age-related loss of skeletal muscle mass and function: Measurement and physiology of muscle fibre atrophy and muscle fibre loss in humans. *Ageing Res Rev*, 47:123-132.
- Wisløff U, Najjar SM, Ellingsen Ø, Haram PM, Swoap S, Al-Share Q, Fernström M, Rezaei K, Lee SJ, Koch LG, Britton SL. 2005. Cardiovascular Risk Factors Emerge After Artificial Selection for Low Aerobic Capacity. *Science*, 307 (5708):418-420.
- Woo JS, Derleth C, Stratton JR, Levy WC. 2006. The Influence of Age, Gender, and Training on Exercise Efficiency. *Journal of the American College of Cardiology*, 47 (5):1049-1057.
- Yan L, Ge H, Li H, Lieber SC, Natividad F, Resuello RRG, Kim SJ, Akeju S, Sun A, Loo K, Peppas AP, Rossi F, Lewandowski ED, Thomas AP, Vatner SF, Vatner DE. 2004. Gender-specific proteomic alterations in glycolytic and mitochondrial pathways in aging monkey hearts. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 37 (5):921-929.
- Yen T-C, Chen Y-S, King K-L, Yeh S-H, Wei Y-H. 1989. Liver mitochondrial respiratory functions decline with age. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 165 (3):994-1003.
- Zaha V, Grohmann J, Gobel H, Geibel A, Beyersdorf F, Doenst T. 2003. Experimental model for heart failure in rats--induction and diagnosis. *Thorac Cardiovasc Surg*, 51 (4):211-215.
- Zhang X, Meng X, Chen Y, Leng SX, Zhang H. 2017. The Biology of Aging and Cancer: Frailty, Inflammation, and Immunity. *Cancer J*, 23 (4):201-205.
- Zhou B, Tian R. 2018. Mitochondrial dysfunction in pathophysiology of heart failure. *The Journal of Clinical Investigation*, 128 (9):3716-3726.

5 Anhang

Tabelle 11 – Zeitpunkte einzelner Untersuchungen

Untersuchung	HCR (♀/♂)			LCR (♀/♂)	
	15 Wochen	100 Wochen	130 Wochen	15 Wochen	100 Wochen
Körperliche Leistungsfähigkeit	x	x	x	x	x
Glukosetoleranztest	x	x	x	x	x
Insulintoleranztest	x	x		x	x
Echokardiografie	x	x	x	x	x
Mitochondriale Morphologie und Funktion	x	x	x	x	x
Calciumsensitivität	x	x	x	x	x
Mitochondriale ROS-Produktion	x	x	x	x	x
Antioxidative Enzyme	x	x		x	x
Lipid- und Proteinschäden	x	x		x	x

5.1 Weitere Daten

Tabelle 12 – Proteinmengen isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts

Mitopopulation		HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Weibchen	Herz IFM	16,3 ± 0,8	19,0 ± 2,1	15,2 ± 0,8	21,8 ± 3,0*	ns	**	ns
	Herz SSM	5,7 ± 0,5	9,4 ± 0,9**	5,2 ± 1,0	10,6 ± 1,2***	ns	***	ns
	Gas IFM	15,7 ± 0,9	15,2 ± 1,8	12,0 ± 1,0	14,6 ± 2,0	ns	ns	ns
	Gas SSM	4,9 ± 0,5	7,6 ± 1,4	4,3 ± 0,9	9,3 ± 2,3*	ns	**	ns
	Leber Mitos	37,5 ± 2,1	40,1 ± 5,1	33,8 ± 3,4	51,1 ± 6,0*	ns	*	ns
Männchen	Herz IFM	20,6 ± 2,3	25,9 ± 3,8	20,6 ± 1,5	22,7 ± 3,0	ns	ns	ns
	Herz SSM	8,2 ± 0,4	15,1 ± 1,9**	10,4 ± 2,3	12,9 ± 1,4	ns	*	ns
	Gas IFM	9,4 ± 0,8	18,1 ± 1,8**	7,0 ± 1,8	15,6 ± 2,1**	ns	***	ns
	Gas SSM	12,2 ± 1,5	8,6 ± 1,1	10,1 ± 2,1	9,0 ± 1,3	ns	ns	ns
	Leber Mitos	37,4 ± 2,0	50,0 ± 5,0*	31,3 ± 3,1	45,5 ± 4,1*	ns	**	ns

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [mg/ml] angegeben. Mitopopulation – Mitochondrienpopulation, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 7-14

Tabelle 13 – Citratsynthaseaktivität isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts

	Mitopopulation	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Weibchen	Herz IFM	3,44 ± 0,34	2,24 ± 0,19**	3,34 ± 0,22	2,11 ± 0,16**	ns	***	ns
	Herz SSM	3,34 ± 0,30	2,01 ± 0,11**	3,62 ± 0,44	1,95 ± 0,14**	ns	***	ns
	Gas IFM	1,67 ± 0,15	1,12 ± 0,08**	1,21 ± 0,10#	0,72 ± 0,18*	**	***	ns
	Gas SSM	2,90 ± 0,46	1,25 ± 0,09**	2,09 ± 0,32	0,86 ± 0,05*	ns	***	ns
	Leber Mitos	0,40 ± 0,02	0,28 ± 0,02**	0,42 ± 0,04	0,20 ± 0,02***#	ns	***	ns
Männchen	Herz IFM	5,06 ± 0,61	2,05 ± 0,16***	4,89 ± 0,27	1,91 ± 0,12***	ns	***	ns
	Herz SSM	4,82 ± 0,34	2,46 ± 0,19***	5,47 ± 0,93	2,20 ± 0,10***	ns	***	ns
	Gas IFM	4,24 ± 0,31	1,24 ± 0,10***	4,00 ± 0,67	0,88 ± 0,07***	ns	***	ns
	Gas SSM	2,81 ± 0,42	1,52 ± 0,09***	2,03 ± 0,31	1,09 ± 0,14*	*	***	ns
	Leber Mitos	0,56 ± 0,04	0,24 ± 0,01***	0,48 ± 0,04	0,21 ± 0,01***	*	***	ns

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [U/mg Protein] angegeben. Mitopopulation – Mitochondrienpopulation, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 7-14

Tabelle 14 – Größe und Komplexität isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts

	Mitopopulation	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Weibchen	Herz IFM SS	17,2 ± 1,5	17,0 ± 2,3	17,4 ± 1,5	26,0 ± 3,5	ns	ns	ns
	Herz IFM VS	21,2 ± 2,7	22,8 ± 2,2	19,7 ± 2,4	19,0 ± 1,2	ns	ns	ns
	Herz SSM SS	18,3 ± 1,4	15,7 ± 2,1	18,1 ± 1,5	19,1 ± 1,9	ns	ns	ns
	Herz SSM VS	31,1 ± 4,8	24,1 ± 2,4	27,7 ± 5,6	20,1 ± 2,3	ns	ns	ns
	Gas IFM SS	20,7 ± 1,7	27,9 ± 2,9*	21,0 ± 1,9	25,0 ± 3,4	ns	*	ns
	Gas IFM VS	92,8 ± 27,9	116,8 ± 27,6	81,2 ± 26,5	82,1 ± 33,0	ns	ns	ns
	Gas SSM SS	27,5 ± 2,1	27,0 ± 1,7	27,7 ± 3,0	24,1 ± 1,2	ns	ns	ns
	Gas SSM VS	57,6 ± 11,8	72,5 ± 14,4	71,7 ± 22,2	39,3 ± 9,6	ns	ns	ns
	Leber Mitos SS	35,6 ± 3,4	38,6 ± 9,2	33,9 ± 4,0	69,5 ± 11,2***##	*	**	*
	Leber Mitos VS	41,0 ± 5,7	31,2 ± 2,0	37,4 ± 5,2	42,5 ± 3,3	ns	ns	ns
Männchen	Herz IFM SS	11,2 ± 0,6	26,4 ± 3,6**	9,8 ± 0,2	21,4 ± 3,1*	ns	***	ns
	Herz IFM VS	19,0 ± 2,4	22,8 ± 1,8	40,6 ± 3,4###	24,5 ± 2,1***	***	*	***
	Herz SSM SS	9,4 ± 0,2	22,6 ± 3,7**	10,1 ± 0,2	17,0 ± 2,1	ns	**	ns
	Herz SSM VS	29,0 ± 1,5	22,8 ± 1,7	54,8 ± 5,4###	24,8 ± 2,1***	***	***	***
	Gas IFM VS	19,5 ± 1,4	23,6 ± 2,0	27,8 ± 2,8#	26,5 ± 2,4	*	ns	ns
	Gas IFM FS	97,1 ± 11,3	73,5 ± 19,5	275,0 ± 47,3###	95,4 ± 22,8***	***	***	**
	Gas SSM SS	22,1 ± 1,9	23,9 ± 1,4	25,8 ± 4,9	25,7 ± 1,2	ns	ns	ns
	Gas SSM VS	87,4 ± 8,1	52,0 ± 11,2	135,1 ± 26,1#	54,6 ± 9***	ns	***	ns
	Leber Mitos SS	15,8 ± 2,6	48,2 ± 11,4	30,6 ± 3,4	38,9 ± 7,9	ns	ns	ns
	Leber Mitos VS	34,7 ± 6,0	34,5 ± 4,1	137,8 ± 25,7###	36,8 ± 3,8***	***	***	***

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in willkürlichen Einheiten [*arbitrary units*] angegeben. Mitopopulation – Mitochondrienpopulation, VS – Vorwärtsstreulicht, SS – Seitenstreulicht, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 6-21

Tabelle 15 – Maximale Respiration der Mitochondrien des Herzens von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts in der Gegenwart verschiedener Substrate

		Substrat	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
							P	A	I
Weibchen	IFM	Glutamat	502 ± 90	425 ± 35	495 ± 12	312 ± 29*	ns	*	ns
		PCoA/Car/Mal	499 ± 57	439 ± 42	530 ± 50	317 ± 33*	ns	*	ns
	SSM	Glutamat	480 ± 54	328 ± 25*	496 ± 85	264 ± 22**	ns	***	ns
		PCoA/Car/Mal	545 ± 67	390 ± 47*	381 ± 62	270 ± 22	*	*	ns
Männchen	IFM	Glutamat	427 ± 62	412 ± 35	317 ± 43	334 ± 22	*	ns	ns
		PCoA/Car/Mal	/	450 ± 49	/	330 ± 31	/	/	/
	SSM	Glutamat	309 ± 21	394 ± 23	308 ± 52	315 ± 25	ns	ns	ns
		PCoA/Car/Mal	/	426 ± 43	/	314 ± 34	/	/	/

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nAtomeO/min/mg Protein] angegeben. IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, PCoA/Car/Mal – Palmitoylcoenzym A/Carnitin/Malat, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 5-14

Tabelle 16 – Maximale Respiration der Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts in der Gegenwart verschiedener Substrate

		Substrat	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
							P	A	I
Weibchen	IFM	Glutamat	157 ± 18	182 ± 12	125 ± 11	93 ± 15###	***	ns	ns
		PCoA/Car/Mal	147 ± 7	187 ± 15	116 ± 10	74 ± 11###	***	ns	*
	SSM	Glutamat	344 ± 53	232 ± 26	407 ± 106	160 ± 34**	ns	**	ns
		PCoA/Car/Mal	351 ± 77	186 ± 19*	390 ± 92	141 ± 35**	ns	***	ns
Männchen	IFM	Glutamat	246 ± 19	165 ± 13**	183 ± 34#	114 ± 10,4*#	**	***	ns
		PCoA/Car/Mal	/	194 ± 16	/	114 ± 11***	/	/	/
	SSM	Glutamat	181 ± 23	198 ± 18	193 ± 36	165 ± 30	ns	ns	ns
		PCoA/Car/Mal	/	201 ± 20	/	139 ± 15*	/	/	/

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nAtomeO/min/mg Protein] angegeben. IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, PCoA/Car/Mal – Palmitoylcoenzym A/Carnitin/Malat, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 5-14

Tabelle 17 – Basale Respiration der Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten, weiblichen Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit in der Gegenwart verschiedener Substrate

	Substrat	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Herz IFM	Glu	105 ± 16	114 ± 13	117 ± 9	85 ± 13	ns	ns	ns
	Glu/Mal	112 ± 6	136 ± 13	119 ± 10	116 ± 15	ns	*	ns
	Pyr/Mal	131 ± 13	128 ± 10	108 ± 11	100 ± 13	*	ns	ns
	Pc/Mal	141 ± 10	155 ± 15	167 ± 15	123 ± 12	ns	ns	*
	PCoA/Car/Mal	138 ± 15	131 ± 12	132 ± 8	110 ± 11	ns	ns	ns
	Succ/Rot	213 ± 13	182 ± 20	227 ± 16	153 ± 18*	ns	**	ns
	DHQ/Rot	291 ± 20	247 ± 29***	257 ± 24	191 ± 25***	ns	***	ns
Herz SSM	Glu	162 ± 12	132 ± 17	129 ± 14	101 ± 16	ns	ns	ns
	Glu/Mal	149 ± 16	159 ± 16	159 ± 21	118 ± 14	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	159 ± 15	132 ± 16	133 ± 20	110 ± 13*	ns	**	ns
	Pc/Mal	168 ± 18	151 ± 19	175 ± 28	118 ± 13	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	217 ± 28	155 ± 18*	140 ± 21#	111 ± 16	*	ns	ns
	Succ/Rot	200 ± 16	199 ± 21	264 ± 2#	152 ± 14***	ns	***	*
	DHQ/Rot	337 ± 67	299 ± 34*	282 ± 45	222 ± 25	ns	*	ns
Gas IFM	Glu	30,6 ± 3,3	53,8 ± 4,0**	36,4 ± 3,5	33,2 ± 5,3##	ns	*	ns
	Glu/Mal	57,9 ± 5,9	67,0 ± 5,4	45,1 ± 3,4	44,8 ± 7,2#	**	ns	ns
	Pyr/Mal	68,0 ± 9,2	62,4 ± 3,7	38,8 ± 4,8##	37,1 ± 4,6#	***	ns	ns
	Pc/Mal	63,5 ± 10,6	60,1 ± 5,2	44,1 ± 1,9	37,5 ± 3,9#	**	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	41,4 ± 5,9	64,5 ± 6,4*	39,1 ± 2,4	32,3 ± 5,6##	*	ns	ns
	Succ/Rot	102 ± 8	101 ± 8	74 ± 8#	50 ± 6###	***	ns	ns
	DHQ/Rot	110 ± 16	163 ± 17*	96 ± 9	63 ± 9###	**	ns	*
Gas SSM	Glu	119 ± 19	117 ± 13	152 ± 26	103 ± 20	ns	ns	ns
	Glu/Mal	117 ± 11	135 ± 13	147 ± 21	109 ± 20	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	134 ± 10	110 ± 11	145 ± 23	96 ± 16*	ns	*	ns
	Pc/Mal	122 ± 16	119 ± 13	186 ± 22#	93 ± 17***	ns	**	*
	PCoA/Car/Mal	153 ± 31	110 ± 11	155 ± 33	92 ± 16	ns	*	ns
	Succ/Rot	161 ± 22	135 ± 13	175 ± 26	98 ± 16*	ns	*	ns
	DHQ/Rot	310 ± 78	208 ± 28	267 ± 48	142 ± 24	ns	*	ns
Leber Mitos	Glu	32,0 ± 2,4	34,7 ± 4,1	29,2 ± 4,2	30,2 ± 4,0	ns	ns	ns
	Glu/Mal	34,9 ± 1,8	41,9 ± 4,2	36,6 ± 5,4	30,8 ± 1,9	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	32,6 ± 2,3	34,0 ± 2,5	31,4 ± 2,1	24,7 ± 1,9#	*	ns	ns
	Pc/Mal	38,6 ± 1,8	43,7 ± 4,1	39,1 ± 3,6	34,7 ± 1,7	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	40,4 ± 3,0	40,4 ± 4,1	41,8 ± 1,7	34,4 ± 4,3	ns	ns	ns
	Succ/Rot	59,0 ± 3,6	57,8 ± 6,1	64,8 ± 7,8	43,9 ± 3,1	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	59,3 ± 9,4	70,3 ± 7,7**	71,8 ± 4,0	53,7 ± 4,2**	ns	***	ns

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nAtomeO/min/mg Protein] angegeben. IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, Glu – Glutamat, Mal – Malat, Pyr – Pyruvat, Pc – Palmitoylcarnitin, PCoA/Car/ – Palmitoylcoenzym A/Carnitin, Succ – Succinat, Rot – Rotenon, DHQ – Duroquinol, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-14

Tabelle 18 – Basale Respiration der Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten, männlichen Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit in der Gegenwart verschiedener Substrate

	Substrat	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Herz IFM	Glu	89,9 ± 10,4	93,4 ± 14,1	66,7 ± 7,6	87,4 ± 12,0	ns	ns	ns
	Glu/Mal	113 ± 11	112 ± 13	83 ± 10	113 ± 14	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	113 ± 14	109 ± 12	80 ± 7	108 ± 12	ns	ns	ns
	Pc/Mal	128 ± 15	131 ± 13	84 ± 9#	115 ± 10	*	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	/	113 ± 12	/	100 ± 12	/	/	/
	Succ/Rot	199 ± 26	178 ± 19	170 ± 23	153 ± 16	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	/	228 ± 19	/	207 ± 22	/	/	/
Herz SSM	Glu	104 ± 7	118 ± 16	118 ± 22	113 ± 20	ns	ns	ns
	Glu/Mal	113 ± 7	132 ± 14***	115 ± 23	141 ± 20**	ns	***	ns
	Pyr/Mal	103 ± 9	115 ± 12	109 ± 17	108 ± 12	ns	ns	ns
	Pc/Mal	120 ± 12	148 ± 18	137 ± 32	123 ± 14	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	/	125 ± 13	/	115 ± 15	/	/	/
	Succ/Rot	184 ± 10	199 ± 22	213 ± 38	170 ± 20	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	/	323 ± 36	/	259 ± 31	/	/	/
Gas IFM	Glu	54,6 ± 4,5	58,3 ± 8,4	61,2 ± 10,9	43,7 ± 6,4	ns	ns	ns
	Glu/Mal	68,4 ± 6,3	60,6 ± 8,1	73,4 ± 11,2	54,3 ± 6,4	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	69,2 ± 7,6	59,4 ± 5,8	68,6 ± 12,0	47,3 ± 5,1	ns	*	ns
	Pc/Mal	71,2 ± 6,8	56,9 ± 6,8	62,6 ± 8,9	46,4 ± 5,0	ns	*	ns
	PCoA/Car/Mal	/	60,8 ± 6,3	/	45,6 ± 5,9	/	/	/
	Succ/Rot	147 ± 16	113 ± 11	136 ± 22	71 ± 7**#	ns	***	ns
	DHQ/Rot	/	175 ± 18	/	114 ± 13*	/	/	/
Gas SSM	Glu	78,1 ± 8,4	93,7 ± 14,5	73,8 ± 16,9	91,1 ± 13,6	ns	ns	ns
	Glu/Mal	86,1 ± 7,5	108,0 ± 14,5	92,8 ± 14,7	110,0 ± 11,6	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	80,6 ± 9,4	100,2 ± 10,7	83,7 ± 12,2	88,1 ± 8,3	ns	ns	ns
	Pc/Mal	91,3 ± 10,8	100,9 ± 11,7	84,4 ± 8,6	95,2 ± 10,6	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	/	98,9 ± 14,3	/	81 ± 9,1	/	/	/
	Succ/Rot	117 ± 18	126 ± 13	104 ± 31	106 ± 11	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	/	187 ± 18	/	152 ± 21*	/	/	/
Leber Mitos	Glu	23,4 ± 1,8	29,5 ± 3,7	17,9 ± 2,1	26,7 ± 3,3	ns	*	ns
	Glu/Mal	32,9 ± 2,7	34,4 ± 3,4	25,7 ± 3,1	30,7 ± 3,4	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	29,4 ± 3,4	29,4 ± 2,2	20,4 ± 1,6#	25,6 ± 2,4	*	ns	ns
	Pc/Mal	40,3 ± 3,4	36,4 ± 3,0	28,6 ± 2,2	33,9 ± 3,8	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	/	34,2 ± 3,3	/	29,8 ± 3,7	/	/	/
	Succ/Rot	62,6 ± 6,0	49,4 ± 4,1	48,8 ± 6,3	41,7 ± 4,4	*	ns	ns
	DHQ/Rot	/	56,2 ± 4,8	/	51,8 ± 5,1	/	/	/

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nAtomeO/min/mg Protein] angegeben, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, Glu – Glutamat, Mal – Malat, Pyr – Pyruvat, Pc – Palmitoylcarnitin, PCoA/Car/ – Palmitoylcoenzym A/Carnitin, Succ – Succinat, Rot – Rotenon, DHQ – Duroquinol, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-14

Tabelle 19 – Verhältnis von produziertem Adenosintriphosphat pro verbrauchtem Sauerstoffatom isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten, weiblichen Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit in der Gegenwart verschiedener Substrate

	Substrat	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Herz IFM	Glu	1,61 ± 0,11	1,58 ± 0,10	1,57 ± 0,05	1,56 ± 0,09	ns	ns	ns
	Glu/Mal	1,53 ± 0,05	1,6 ± 0,08	1,50 ± 0,13	1,56 ± 0,11	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	1,63 ± 0,13	1,69 ± 0,09	1,74 ± 0,12	1,58 ± 0,11	ns	ns	ns
	Pc/Mal	1,51 ± 0,07	1,57 ± 0,08	1,52 ± 0,09	1,59 ± 0,10	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	1,53 ± 0,14	1,61 ± 0,08	1,66 ± 0,04	1,60 ± 0,13	ns	ns	ns
	Succ/Rot	0,83 ± 0,05	0,99 ± 0,05*	0,71 ± 0,04	0,92 ± 0,05*	ns	***	ns
	DHQ/Rot	0,79 ± 0,05	0,97 ± 0,05	0,85 ± 0,07	0,99 ± 0,06	ns	*	ns
Herz SSM	Glu	1,49 ± 0,13	1,46 ± 0,11	1,66 ± 0,20	1,39 ± 0,12	ns	ns	ns
	Glu/Mal	1,51 ± 0,21	1,44 ± 0,09	1,28 ± 0,07	1,33 ± 0,05	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	1,65 ± 0,22	1,58 ± 0,11	1,47 ± 0,09	1,47 ± 0,05	ns	ns	ns
	Pc/Mal	1,31 ± 0,08	1,49 ± 0,11	1,51 ± 0,13	1,44 ± 0,07	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	1,29 ± 0,10	1,39 ± 0,10	1,48 ± 0,12	1,41 ± 0,07	ns	ns	ns
	Succ/Rot	0,73 ± 0,05	0,93 ± 0,06**	0,71 ± 0,06	0,86 ± 0,04	ns	**	ns
	DHQ/Rot	0,68 ± 0,04	0,88 ± 0,06**	0,82 ± 0,04	0,90 ± 0,04	ns	*	ns
Gas IFM	Glu	1,55 ± 0,08	1,54 ± 0,09	1,46 ± 0,08	1,30 ± 0,07	ns	ns	ns
	Glu/Mal	1,77 ± 0,20	1,61 ± 0,09	1,45 ± 0,06	1,50 ± 0,07	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	2,03 ± 0,37	1,64 ± 0,10	1,58 ± 0,09	1,53 ± 0,09	ns	ns	ns
	Pc/Mal	1,63 ± 0,27	1,54 ± 0,08	1,38 ± 0,08	1,47 ± 0,09	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	1,43 ± 0,12	1,47 ± 0,11	1,35 ± 0,14	1,41 ± 0,09	ns	ns	ns
	Succ/Rot	1,01 ± 0,15	0,98 ± 0,06	0,73 ± 0,08	0,92 ± 0,04	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	0,77 ± 0,06	0,87 ± 0,05	0,82 ± 0,13	0,90 ± 0,05	ns	ns	ns
Gas SSM	Glu	1,30 ± 0,15	1,09 ± 0,07	1,11 ± 0,21	0,73 ± 0,12	ns	*	ns
	Glu/Mal	1,51 ± 0,19	1,12 ± 0,08*	1,08 ± 0,08#	0,93 ± 0,10	*	*	ns
	Pyr/Mal	1,64 ± 0,24	1,19 ± 0,10*	1,03 ± 0,09##	1,00 ± 0,09	ns	*	ns
	Pc/Mal	1,51 ± 0,24	0,96 ± 0,04**	0,97 ± 0,08#	0,83 ± 0,08	*	*	ns
	PCoA/Car/Mal	1,29 ± 0,17	0,99 ± 0,04*	1,13 ± 0,16	0,74 ± 0,09*#	ns	**	ns
	Succ/Rot	0,78 ± 0,04	0,82 ± 0,06	0,57 ± 0,08#	0,67 ± 0,08	ns	*	ns
	DHQ/Rot	0,69 ± 0,07	0,78 ± 0,04	0,50 ± 0,05	0,70 ± 0,06*	*	*	ns
Leber Mitos	Glu	1,86 ± 0,10	1,51 ± 0,12*	1,54 ± 0,05	1,37 ± 0,03	ns	*	ns
	Glu/Mal	1,83 ± 0,19	1,53 ± 0,13	1,50 ± 0,09	1,32 ± 0,03	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	1,39 ± 0,14	1,18 ± 0,11	1,19 ± 0,10	0,99 ± 0,04	ns	ns	ns
	Pc/Mal	1,62 ± 0,18	1,31 ± 0,11	1,31 ± 0,08	1,17 ± 0,03	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	1,64 ± 0,10	1,32 ± 0,10	1,35 ± 0,04	1,23 ± 0,06	ns	ns	ns
	Succ/Rot	1,11 ± 0,16	0,96 ± 0,05	0,81 ± 0,06#	0,82 ± 0,03	*	ns	ns
	DHQ/Rot	0,90 ± 0,07	0,92 ± 0,05	0,83 ± 0,10	0,85 ± 0,06	ns	ns	ns

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nmolADP/AnzahlAtomeO] angegeben. IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, Glu – Glutamat, Mal – Malat, Pyr – Pyruvat, Pc – Palmitoylcarnitin, PCoA/Car/ – Palmitoylcoenzym A/Carnitin, Succ – Succinat, Rot – Rotenon, DHQ – Duroquinol, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-14

Tabelle 20 – Verhältnis von produziertem Adenosintriphosphat pro verbrauchtem Sauerstoffatom isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten, männlichen Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit in der Gegenwart verschiedener Substrate

	Substrat	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Herz IFM	Glu	1,62 ± 0,05	1,50 ± 0,10	1,66 ± 0,07	1,63 ± 0,13	ns	ns	ns
	Glu/Mal	1,67 ± 0,05	1,62 ± 0,12	1,70 ± 0,09	1,64 ± 0,10	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	1,75 ± 0,04	1,71 ± 0,11	1,95 ± 0,06	1,71 ± 0,15	ns	ns	ns
	Pc/Mal	1,65 ± 0,04	1,61 ± 0,13	1,85 ± 0,08	1,67 ± 0,09	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	/	1,58 ± 0,11	/	1,70 ± 0,13	/	/	/
	Succ/Rot	0,92 ± 0,07	0,89 ± 0,07	0,89 ± 0,05	1,03 ± 0,06	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	/	0,91 ± 0,04	/	0,99 ± 0,07	/	/	/
Herz SSM	Glu	1,53 ± 0,09	1,40 ± 0,10	1,42 ± 0,10	1,54 ± 0,11	ns	ns	ns
	Glu/Mal	1,49 ± 0,09	1,49 ± 0,11	1,36 ± 0,10	1,52 ± 0,11	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	1,55 ± 0,08	1,64 ± 0,11	1,54 ± 0,04	1,71 ± 0,11	ns	ns	ns
	Pc/Mal	1,51 ± 0,07	1,54 ± 0,13	1,60 ± 0,06	1,66 ± 0,09	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	/	1,51 ± 0,11	/	1,54 ± 0,10	/	/	/
	Succ/Rot	0,80 ± 0,09	0,90 ± 0,06	0,69 ± 0,04	1,00 ± 0,06**	ns	*	*
	DHQ/Rot	/	0,83 ± 0,05	/	0,92 ± 0,06	/	/	/
Gas IFM	Glu	1,59 ± 0,04	1,40 ± 0,10	1,56 ± 0,10	1,43 ± 0,12	ns	ns	ns
	Glu/Mal	1,68 ± 0,07	1,55 ± 0,13	1,83 ± 0,21	1,60 ± 0,10	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	1,63 ± 0,06	1,62 ± 0,11	1,68 ± 0,05	1,70 ± 0,14	ns	ns	ns
	Pc/Mal	1,54 ± 0,06	1,55 ± 0,13	1,56 ± 0,06	1,52 ± 0,13	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	/	1,49 ± 0,14	/	1,57 ± 0,12	/	/	/
	Succ/Rot	0,96 ± 0,05	0,88 ± 0,07	0,89 ± 0,05	1,02 ± 0,06	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	/	0,77 ± 0,06	/	0,93 ± 0,06	/	/	/
Gas SSM	Glu	1,25 ± 0,08	1,09 ± 0,11	1,41 ± 0,15	0,81 ± 0,09**	ns	**	ns
	Glu/Mal	1,33 ± 0,08	1,30 ± 0,12	1,56 ± 0,22	1,08 ± 0,07	ns	ns	ns
	Pyr/Mal	1,35 ± 0,10	1,32 ± 0,11	1,55 ± 0,15	1,14 ± 0,08	ns	ns	ns
	Pc/Mal	1,25 ± 0,09	1,19 ± 0,11	1,01 ± 0,30	0,94 ± 0,06	ns	ns	ns
	PCoA/Car/Mal	/	1,16 ± 0,09	/	0,86 ± 0,05*	/	/	/
	Succ/Rot	0,80 ± 0,10	0,82 ± 0,05	0,75 ± 0,08	0,75 ± 0,05	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	/	0,77 ± 0,05	/	0,77 ± 0,05	/	/	/
Leber Mitos	Glu	1,75 ± 0,05	1,35 ± 0,11*	2,02 ± 0,21	1,54 ± 0,14*	ns	**	ns
	Glu/Mal	1,82 ± 0,06	1,40 ± 0,09**	1,81 ± 0,14	1,47 ± 0,12*	ns	**	ns
	Pyr/Mal	1,56 ± 0,06	1,20 ± 0,10*	1,57 ± 0,13	1,25 ± 0,12	ns	*	ns
	Pc/Mal	1,71 ± 0,05	1,26 ± 0,09**	1,73 ± 0,09	1,38 ± 0,13*	ns	***	ns
	PCoA/Car/Mal	/	1,25 ± 0,10	/	1,45 ± 0,16	/	/	/
	Succ/Rot	0,99 ± 0,06	0,85 ± 0,06	1,07 ± 0,08	0,95 ± 0,06	ns	ns	ns
	DHQ/Rot	/	0,81 ± 0,05	/	0,91 ± 0,06	/	/	/

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nmolADP/AnzahlAtomeO] angegeben. IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, Glu – Glutamat, Mal – Malat, Pyr – Pyruvat, Pc – Palmitoylcarnitin, PCoA/Car/ – Palmitoylcoenzym A/Carnitin, Succ – Succinat, Rot – Rotenon, DHQ – Duroquinol, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-14

Tabelle 21 – Geschwindigkeit des Calcium-induzierten Anschwellens isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten Ratten mit hoher (HCR) oder niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts

	Mitopopulation	HCR adult	HCR alt	LCR adult	LCR alt	Statistik		
						P	A	I
Weibchen	Herz IFM	0,0126 ± 0,0012	0,0120 ± 0,0042	0,0178 ± 0,0021	0,0183 ± 0,0021	*	ns	ns
	Herz SSM	0,0117 ± 0,0013	0,013 ± 0,0026	0,0136 ± 0,0017	0,0143 ± 0,0011	ns	ns	ns
	Gas IFM	0,0198 ± 0,002	0,0184 ± 0,0036	0,0146 ± 0,0013	0,015 ± 0,0012	*	ns	ns
	Gas SSM	0,0134 ± 0,0013	0,0099 ± 0,0014	0,0133 ± 0,0009	0,0095 ± 0,0007*	ns	**	ns
	Leber Mitos	0,0205 ± 0,001	0,0185 ± 0,0017	0,0193 ± 0,0008	0,0192 ± 0,0007	ns	ns	ns
Männchen	Herz IFM	0,0163 ± 0,0031±	0,0232 ± 0,001	0,0222 ± 0,0016	0,0191 ± 0,0023	ns	ns	*
	Herz SSM	0,014 ± 0,001	0,019 ± 0,0026	0,0177 ± 0,0009	0,014 ± 0,0018	ns	ns	*
	Gas IFM	0,0198 ± 0,0015	0,0157 ± 0,0014	0,0141 ± 0,0005#	0,0124 ± 0,0021	**	ns	ns
	Gas SSM	0,0153 ± 0,0011	0,0127 ± 0,0022	0,0124 ± 0,0006	0,0086± 0,0006*#	**	*	ns
	Leber Mitos	0,0264 ± 0,0019	0,0203 ± 0,0023	0,0292 ± 0,0021	0,0199 ± 0,0027	ns	**	ns

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [AU] angegeben. Mitopopulation – Mitochondrienpopulation, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, P – Phänotyp, A – Alter, I – Interaktion, ns – nicht signifikant. * – versus (vs.) adulte Tiere mit gleichem Phänotyp, # – vs. HCR im gleichen Alter. */# p<0,05; **/## p<0,01; ***/### p<0,001. n = 4-9

Tabelle 22 – Alter, Tibiallänge und Organgewichte von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts

Parameter		HCR alt	HCR seneszent
Weibchen	Alter [Wochen]	104 ± 1	131 ± 1***
	TL [mm]	39,4 ± 0,2	39,0 ± 0,1
	KG/TL [mg/mm]	7,34 ± 0,25	6,38 ± 0,28*
	HG/TL [mg/mm]	26,3 ± 0,7	23,6 ± 0,6
	LuG/TL [mg/mm]	34,5 ± 0,7	35,8 ± 1,6
	M.Sol/TL [mg/mm]	6,89 ± 0,24	5,73 ± 0,37*
	LeG/TL [mg/mm]	277 ± 15	180 ± 53*
	GFG/TL [mg/mm]	100 ± 9	27 ± 7**
Männchen	Alter [Wochen]	105 ± 1	133 ± 1***
	TL [mm]	43,8 ± 0,3	43,6 ± 0,3
	KG/TL [mg/mm]	9,47 ± 0,16	8,92 ± 0,46
	HG/TL [mg/mm]	28,8 ± 0,8	28,3 ± 1,8
	LuG/TL [mg/mm]	35,0 ± 1,3	43,4 ± 3,1*
	M.Sol/TL [mg/mm]	8,28 ± 0,24	6,89 ± 0,40**
	LeG/TL [mg/mm]	316 ± 14	267 ± 19
	GFG/TL [mg/mm]	140 ± 12	127 ± 19

Werte sind als Mittelwert ± SEM angegeben. TL – Tibiallänge, KG – Körpergewicht, HG – Herzgewicht, LuG – Lungengewicht, M.Sol – Soleus, LeG – Lebergewicht, GFG – Gonadenfettgewicht. * – versus alte HCR. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001. n = 5-14

Tabelle 23 – Proteinmengen isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beider Geschlechter

Mitopopulation		HCR alt	HCR seneszent
Weibchen	Herz IFM	19 ± 2,1	12,8 ± 0,8*
	Herz SSM	9,4 ± 0,9	5,9 ± 0,9*
	Gas IFM	15,2 ± 1,8	12,7 ± 1,6
	Gas SSM	7,6 ± 1,4	4,3 ± 0,7
	Leber Mitos	40,1 ± 5,1	25,8 ± 2*
Männchen	Herz IFM	25,9 ± 3,8	16,5 ± 1,1
	Herz SSM	15,1 ± 1,9	8,2 ± 0,9**
	Gas IFM	18,1 ± 1,8	8,9 ± 1***
	Gas SSM	8,6 ± 1,1	4,6 ± 0,8*
	Leber Mitos	50,0 ± 5,0	30,2 ± 1,2**

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [mg/ml] angegeben. Mitopopulation – Mitochondrienpopulation, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius. * – versus alte HCR. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001. n = 5-14

Tabelle 24 – Maximale Respiration der Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beider Geschlechter in der Gegenwart verschiedener Substrate

Verschiedener Substrate		Weibchen		Männchen	
Substrat		HCR alt	HCR seneszent	HCR alt	HCR seneszent
Herz IFM	Glu	425 ± 35	480 ± 77	412 ± 35	562 ± 26*
	Glu/Mal	518 ± 41	574 ± 104	500 ± 45	623 ± 34
	Pyr/Mal	382 ± 47	544 ± 87	358 ± 32	582 ± 41***
	PCoA/Car/Mal	439 ± 42	555 ± 100	450 ± 49	621 ± 40*
	Succ/Rot	531 ± 49	716 ± 116	562 ± 49	836 ± 53**
	DHQ/Rot	766 ± 69	1081 ± 195	811 ± 70	1186 ± 65**
	TMPD/Rot	1261 ± 128	1526 ± 191	1335 ± 141	1657 ± 166
Herz SSM	Glu	328 ± 25	313 ± 60	394 ± 23	450 ± 38
	Glu/Mal	412 ± 39	398 ± 71	472 ± 33	517 ± 43
	Pyr/Mal	323 ± 37	364 ± 82	389 ± 40	516 ± 46
	PCoA/Car/Mal	390 ± 47	339 ± 48	426 ± 43	484 ± 45
	Succ/Rot	452 ± 45	477 ± 80	555 ± 46	704 ± 55
	DHQ/Rot	746 ± 87	798 ± 138	1003 ± 117	1101 ± 99
	TMPD/Rot	1054 ± 109	1068 ± 95	1184 ± 119	1437 ± 126
Gas IFM	Glu	182 ± 12	106 ± 10**	165 ± 13	266 ± 32**
	Glu/Mal	295 ± 18	148 ± 5**	304 ± 22	361 ± 35
	Pyr/Mal	185 ± 13	109 ± 11*	211 ± 13	300 ± 30**
	PCoA/Car/Mal	187 ± 15	98 ± 16*	194 ± 16	193 ± 18
	Succ/Rot	278 ± 14	174 ± 7*	351 ± 28	427 ± 43
	DHQ/Rot	449 ± 38	252 ± 47*	512 ± 51	623 ± 61
	TMPD/Rot	732 ± 50	421 ± 32*	812 ± 70	877 ± 115
Gas SSM	Glu	232 ± 26	186 ± 23	198 ± 18	264 ± 36
	Glu/Mal	302 ± 25	227 ± 19	317 ± 16	320 ± 36
	Pyr/Mal	221 ± 23	172 ± 20	243 ± 20	271 ± 30
	PCoA/Car/Mal	186 ± 19	133 ± 10	201 ± 20	191 ± 25
	Succ/Rot	294 ± 25	259 ± 30	324 ± 29	393 ± 43
	DHQ/Rot	481 ± 51	410 ± 48	506 ± 38	559 ± 58
	TMPD/Rot	665 ± 64,5	610 ± 66	704 ± 65	775 ± 87
Leber Mitos	Glu	154 ± 11	154 ± 7	127 ± 8	177 ± 13**
	Glu/Mal	196 ± 15	178 ± 5	153 ± 9	195 ± 19*
	Pyr/Mal	56,9 ± 4,3	53,9 ± 3,7	60 ± 4,3	75 ± 5,2*
	PCoA/Car/Mal	132 ± 10	121 ± 25	109 ± 8	138 ± 14
	Succ/Rot	203 ± 15	264 ± 16	174 ± 11	290 ± 31***
	DHQ/Rot	209 ± 18	280 ± 15	181 ± 12	318 ± 36***
	TMPD/Rot	417 ± 44	473 ± 31	398 ± 37	558 ± 68*

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nAtomeO/min/mg Protein] angegeben, IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, Glu – Glutamat, Mal – Malat, Pyr – Pyruvat, PCoA/Car/ – Palmitoylcoenzym A/Carnitin, Succ – Succinat, Rot – Rotenon, DHQ – Duroquinol, TMPD – Tetramethylphenylendiamin. * – versus alte HCR. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001. n = 3-14

Tabelle 25 – Basale Respiration der Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beider Geschlechter in der Gegenwart verschiedener Substrate

Substrat		Weibchen		Männchen	
		HCR alt	HCR seneszent	HCR alt	HCR seneszent
Herz IFM	Glu	114 ± 13	137 ± 8	93,4 ± 14,1	164 ± 15**
	Glu/Mal	136 ± 13	144 ± 5	112 ± 13	179 ± 13**
	Pyr/Mal	128 ± 10	125 ± 4	109 ± 12	170 ± 14**
	Pc/Mal	155 ± 15	138 ± 9	131 ± 13	171 ± 10
	PCoA/Car/Mal	131 ± 12	129 ± 7	113 ± 12	164 ± 9**
	Succ/Rot	182 ± 20	274 ± 26*	178 ± 19	320 ± 31***
	DHQ/Rot	247 ± 29	343 ± 33	228 ± 19	350 ± 40**
Herz SSM	Glu	132 ± 17	138 ± 15	118 ± 16	176 ± 15*
	Glu/Mal	159 ± 16	125 ± 14	132 ± 14	164 ± 16
	Pyr/Mal	132 ± 16	100 ± 15	115 ± 12	143 ± 14
	Pc/Mal	151 ± 19	113 ± 13	148 ± 18	155 ± 16
	PCoA/Car/Mal	155 ± 18	106 ± 11	125 ± 13	152 ± 16
	Succ/Rot	199 ± 21	250 ± 28	199 ± 22	306 ± 23**
	DHQ/Rot	299 ± 34	351 ± 32	323 ± 36	400 ± 45
Gas IFM	Glu	53,8 ± 4,0	47,0 ± 11,0	58,3 ± 8,4	79,7 ± 10,5
	Glu/Mal	67,0 ± 5,4	47,6 ± 10,5	60,6 ± 8,1	96,0 ± 12,7*
	Pyr/Mal	62,4 ± 3,7	32,9 ± 3,7**	59,4 ± 5,8	78,9 ± 9,4
	Pc/Mal	60,1 ± 5,2	36,1 ± 6,1	56,9 ± 6,8	80,7 ± 9,4*
	PCoA/Car/Mal	64,5 ± 6,4	43,1 ± 9,2	60,8 ± 6,3	81,3 ± 10,4
	Succ/Rot	101 ± 8	79 ± 9	113 ± 11	175 ± 23*
	DHQ/Rot	163 ± 17	102 ± 9	175 ± 18	222 ± 32
Gas SSM	Glu	117 ± 13	110 ± 10	93,7 ± 14,5	137 ± 13
	Glu/Mal	135 ± 13	107 ± 11	108,0 ± 14,5	131 ± 12
	Pyr/Mal	110 ± 11	82 ± 13	100,2 ± 10,7	114 ± 12
	Pc/Mal	119 ± 13	83 ± 9	100,9 ± 11,7	118 ± 12
	PCoA/Car/Mal	110 ± 11	88 ± 13	98,9 ± 14,3	114 ± 14
	Succ/Rot	135 ± 13	175 ± 28	126 ± 13	221 ± 26**
	DHQ/Rot	208 ± 28	226 ± 27	187 ± 18	245 ± 28
Leber Mitos	Glu	34,7 ± 4,1	37,7 ± 2,5	29,5 ± 3,7	49,1 ± 4,6**
	Glu/Mal	41,9 ± 4,2	43,7 ± 3,5	34,4 ± 3,4	49,8 ± 6,3*
	Pyr/Mal	34,0 ± 2,5	33,1 ± 3,5	29,4 ± 2,2	40,3 ± 4,0*
	Pc/Mal	43,7 ± 4,1	37,7 ± 4,0	36,4 ± 3,0	47,8 ± 4,4*
	PCoA/Car/Mal	40,4 ± 4,1	39,8 ± 2,5	34,2 ± 3,3	50,2 ± 4,1**
	Succ/Rot	57,8 ± 6,1	77,0 ± 4,7	49,4 ± 4,1	83,9 ± 10,8**
	DHQ/Rot	70,3 ± 7,7	87,4 ± 3,8	56,2 ± 4,8	96,0 ± 12,1**

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nAtomeO/min/mg Protein] angegeben. IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, Glu – Glutamat, Mal – Malat, Pyr – Pyruvat, Pc – Palmitoylcarnitin, PCoA/Car – Palmitoylcoenzym A/Carnitin, Succ – Succinat, Rot – Rotenon, DHQ – Duroquinol. * – versus alte HCR. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001. n = 3-14

Tabelle 26 – Verhältnis von produziertem Adenosintriphosphat pro verbrauchtem Sauerstoffatom isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts in der Gegenwart verschiedener Substrate

Substrat	Weibchen		Männchen	
	HCR alt	HCR seneszent	HCR alt	HCR seneszent
Herz IFM	Glu	1,58 ± 0,10	1,49 ± 0,19	1,50 ± 0,10
	Glu/Mal	1,6 ± 0,08	1,58 ± 0,20	1,62 ± 0,12
	Pyr/Mal	1,69 ± 0,09	1,74 ± 0,13	1,71 ± 0,11
	Pc/Mal	1,57 ± 0,08	1,57 ± 0,10	1,61 ± 0,13
	PCoA/Car/Mal	1,61 ± 0,08	1,56 ± 0,13	1,58 ± 0,11
	Succ/Rot	0,99 ± 0,05	1,03 ± 0,09	0,89 ± 0,07
	DHQ/Rot	0,97 ± 0,05	1,05 ± 0,09	0,91 ± 0,04
Herz SSM	Glu	1,46 ± 0,11	1,23 ± 0,22	1,40 ± 0,10
	Glu/Mal	1,44 ± 0,09	1,38 ± 0,15	1,49 ± 0,11
	Pyr/Mal	1,58 ± 0,11	1,72 ± 0,18	1,64 ± 0,11
	Pc/Mal	1,49 ± 0,11	1,43 ± 0,12	1,54 ± 0,13
	PCoA/Car/Mal	1,39 ± 0,10	1,44 ± 0,12	1,51 ± 0,11
	Succ/Rot	0,93 ± 0,06	1,04 ± 0,28	0,90 ± 0,06
	DHQ/Rot	0,88 ± 0,06	0,77 ± 0,14	0,83 ± 0,05
Gas IFM	Glu	1,54 ± 0,09	1,24 ± 0,22	1,40 ± 0,10
	Glu/Mal	1,61 ± 0,09	1,39 ± 0,21	1,55 ± 0,13
	Pyr/Mal	1,64 ± 0,10	1,48 ± 0,10	1,62 ± 0,11
	Pc/Mal	1,54 ± 0,08	1,38 ± 0,14	1,55 ± 0,13
	PCoA/Car/Mal	1,47 ± 0,11	1,28 ± 0,15	1,49 ± 0,14
	Succ/Rot	0,98 ± 0,06	0,92 ± 0,14	0,88 ± 0,07
	DHQ/Rot	0,87 ± 0,05	0,79 ± 0,15	0,77 ± 0,06
Gas SSM	Glu	1,09 ± 0,07	0,85 ± 0,18	1,09 ± 0,11
	Glu/Mal	1,12 ± 0,08	0,97 ± 0,19	1,30 ± 0,12
	Pyr/Mal	1,19 ± 0,10	1,22 ± 0,29	1,32 ± 0,11
	Pc/Mal	0,96 ± 0,04	0,89 ± 0,06	1,19 ± 0,11
	PCoA/Car/Mal	0,99 ± 0,04	0,70 ± 0,08**	1,16 ± 0,09
	Succ/Rot	0,82 ± 0,06	0,62 ± 0,14	0,82 ± 0,05
	DHQ/Rot	0,78 ± 0,04	0,59 ± 0,13	0,77 ± 0,05
Leber Mitos	Glu	1,51 ± 0,12	1,41 ± 0,09	1,35 ± 0,11
	Glu/Mal	1,53 ± 0,13	1,30 ± 0,11	1,40 ± 0,09
	Pyr/Mal	1,18 ± 0,11	1,18 ± 0,11	1,20 ± 0,10
	Pc/Mal	1,31 ± 0,11	1,27 ± 0,11	1,26 ± 0,09
	PCoA/Car/Mal	1,32 ± 0,10	1,35 ± 0,07	1,25 ± 0,10
	Succ/Rot	0,96 ± 0,05	0,96 ± 0,09	0,85 ± 0,06
	DHQ/Rot	0,92 ± 0,05	0,87 ± 0,07	0,81 ± 0,05

Werte sind als Mittelwert ± SEM und in der Einheit [nmolADP/AnzahlAtomeO] angegeben. IFM – interfibrilläre Mitochondrien, SSM – subsarkolemmale Mitochondrien, Mitos – Mitochondrien, Gas – Gastrocnemius, Glu – Glutamat, Mal – Malat, Pyr – Pyruvat, Pc – Palmitoylcarnitin, PCoA/Car – Palmitoylcoenzym A/Carnitin, Succ – Succinat, Rot – Rotenon, DHQ – Duroquinol. * – versus alte HCR.

* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001. n = 3-14

5.2 Geräte und Instrumente

Exer-3/6-Laufband Serial 06252-2 & 05118-1
 Echokardiografiegerät Vevo 770
 Wärmeplatte mit EKG Ableitern
 Schallkopf RMV716
 Blutzuckermessgerät FreeStyle
 Blutzuckerteststreifen
 feine Schere
 Pinzetten
 Dispergierwerkzeug
 Ultra-Turrax T25 mit S25N-18G
 Ultra-Turrax T8 mit S8N-5G
 Gewebekomogenisatoren nach Potter Elvehjem
 Zentrifugen
 Mechanische Pipetten mit Direktverdrängung
 Durchflusssyztometer FC-500
 Clark-Elektroden
 Wasserbad mit Heizspindel
 Photometer

Columbus Instruments
 Fujifilm VisualSonics®

 Fujifilm VisualSonics®
 Abbott GmbH & Co. KG
 Abbott GmbH & Co. KG

IKA®-Werke
 IKA®-Werke
 VWR Collection
 eppendorf
 Gilson
 Beckman Coulter
 Strathkelvin

Biotek

5.3 Verbrauchsmaterialien

Leukoflex
 Sterile Wattestäbchen
 Spritzen und Kanülen, versch.
 Zentrifugenröhrchen
 96-Kavitäten-Microtiterplatten
 Reaktionsgefäße, versch.

BSN Medical
 NOBAMED Paul Danz AG
 B. Braun Melsungen AG
 ThermoFischer
 Greiner BioOne
 Greiner BioOne

5.4 Chemikalien

Acetyl coenzyme A trilithium salt
 Adenosindiphosphat
 Adenosintriphosphat
 Ammoniumperoxisulfat (APS)
 Antikörper:
 Anti-HNE (#ab46545)
 Anti-GAPDH (#ab7269)
 Anti-rabbit HRP IgG (RPN4301)
 Antimycin A from Streptomyces sp.
 Aprotinin
 Biozym SE
 Bovines Serumalbumin
 Bromphenolblau
 Calciumchloriddihydrat
 Chemiluminescence reagent for horseradish peroxidase
 Coomassieblau
 Cumene Hydroperoxide
 Digitonin

Sigma-Aldrich®
 Sigma-Aldrich®
 Sigma-Aldrich®
 Carl Roth®

 AbChem
 AbChem
 Merck Chemicals GmbH
 Sigma-Aldrich®
 Carl Roth®
 Claude Cosmetics
 Sigma-Aldrich®
 Carl Roth®
 Merck Chemicals GmbH
 SERVA
 SERVA
 Sigma-Aldrich®
 Sigma-Aldrich®

Di-Kaliumhydrogenphosphat	Sigma-Aldrich®
Dinatriumhydrogenphosphat	Carl Roth®
Dinitrophenol	Sigma-Aldrich®
Dinitrophenylhydrazin	Sigma-Aldrich®
Dithiothreitol	Carl Roth®
Dithiobis-(2nitrobenzoesäure) (DTNB)	Sigma-Aldrich®
Ethylacetat	Carl Roth®
Ethylendiamintetraessigsäure	Carl Roth®
Ethylenglycol-bis(aminoethylether)- <i>N,N,N',N'</i> -tetraessigsäure	Carl Roth®
Essigsäure	Carl Roth®
Färbereagenz-Konzentrat	Biorad
Guanidinhydrochlorid	Carl Roth®
Glukose	Sigma-Aldrich®
Glutamat (L-glutamic acid Na-Salt)	Sigma-Aldrich®
Glycerol	Sigma-Aldrich®
Glycin	Carl Roth®
Hepes	Sigma-Aldrich®
Homovanillinmandelsäure	Sigma-Aldrich®
Insulin Rapid 100I.E./ml; 3ml Patrone	Insuman
Isopropanol (2-Propanol)	Sigma-Aldrich®
Kaliumchlorid	Merck Chemicals GmbH
Kaliumdihydrogenphosphat	Riedel-de Haën AG
Kaliumhydrogenphosphat	Carl Roth®
Katalase (<i>Aspergillus niger</i>)	Carl Roth®
Kumarinsäure	Sigma-Aldrich®
L-Carnitin	Sigma-Aldrich®
Leupeptin Hemisulfat	Carl Roth®
Luminol	Fluka
Magermilchpulver	Carl Roth®
Magnesiumsulfat	Sigma-Aldrich®
Magnesiumsulfatheptahydrat	Merck Chemicals GmbH
Malat	Sigma-Aldrich®
Mannitol	Sigma-Aldrich®
Masson's Trichrom Färbung	Sigma-Aldrich®
Methanol	Carl Roth®
(3-)Morpholino-1-propansulfonsäure (MOPS)	Sigma-Aldrich®
<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	Sigma-Aldrich®
Natriumazid	Sigma-Aldrich®
Natriumchlorid	Carl Roth®
Natriumchlorid 0,9 %	Fresenius Kabi
Natriumdiphosphat	Sigma-Aldrich®
Natriumfluorid	Sigma-Aldrich®
Natriumglutamat	Sigma-Aldrich®
Natriumhydrogencarbonat	Riedel-de Haën AG
Natriumdihydrogenphosphat	Merck Chemicals GmbH
Natriumhydroxid	Carl Roth®
Naphtol Blue Black	Fluka
Nicotinamadeninindinukleotid (NADH)	Sigma-Aldrich®
Oligomycin	Sigma-Aldrich®
Oxaloacetic Acid (98 %)	Sigma-Aldrich®
Palmitolycarnitin	Sigma-Aldrich®
Palmitoyl-CoA	Sigma-Aldrich®

Pepstatin A	Carl Roth®
Phenylmethylsulfonylfluorid (PMSF)	Carl Roth®
Polyacrylamid 30 %	AppliChem
Precision Protein Streptactin-HRP Conjugate	Bio-Rad
Protease Inhibitor Cocktail-Tabletten	Sigma-Aldrich®
Proteaseinhibitor-Tabletten (Complete mini)	Sigma-Aldrich®
Protein Assay Dye Reagent Concentrate	Bio-Rad
Protein Standard flüssig, 2 mg protein/ml	Sigma-Aldrich®
Pyrogallol	Sigma-Aldrich®
Pyruvat	Sigma-Aldrich®
Rotenon	Sigma-Aldrich®
Salzsäure	Carl Roth®
SDS (Natriumdodecylsulfat)	Carl Roth®
Succinat	Sigma-Aldrich®
Succrose	Sigma-Aldrich®
Superoxiddismutase	Sigma-Aldrich®
Tetramethylphenylendiamin	Sigma-Aldrich®
Tetramethylhydroquinone (Duroquinol)	TCI Europe MV
Trichloressigsäure	Carl Roth®
Trichrom Färbereagenz	Sigma-Aldrich®
Tris (basisch)	Carl Roth®
Tris-HCl	Sigma-Aldrich®
Triton -X 100	Sigma-Aldrich®
Trypsin	Sigma-Aldrich®
Tween 20	AppliChem
Wasserstoffperoxid	Sigma-Aldrich®

5.5 Medikamente

Insulin	Actrapid®
Isofluran	Piramal Critical Care
Medetomidin (Domitor®)	Orion Pharma
Thiopenthal	Inresa Arzneimittel GmbH

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 – Zentrifugationsprotokoll für die Gewinnung interfibrillärer (IFM) und subsarkolemmaler Mitochondrien (SSM)	22
Abbildung 2 – Mitochondriale Atmungskette und verwendete Substrate	24
Abbildung 3 – Schematische Darstellung der Bestimmung der maximalen respiratorischen Kapazität.....	25
Abbildung 4 – Maximale Laufgeschwindigkeit (A+D), mittlere Laufstrecke (B+E) und Laufzeit (C+F) von adulten und alten Ratten.....	33
Abbildung 5 – Insulin- und Glukosetoleranz von adulten und alten Ratten	34
Abbildung 6 – Körpergewicht (A+D), relatives Ventrikelgewicht (B+E) und relatives Gewicht des Gastrocnemius (M. Gas; C+F) bezogen auf die Tibiallänge (TL) von adulten und alten Ratten.....	37
Abbildung 7 – Citratsynthaseaktivität der Gewebehomogenate des Herzens (A+D), des Skelettmuskels (B+E) und der Leber (C+F) von adulten und alten Ratten	39
Abbildung 8 – Größe und Komplexität der interfibrillären Mitochondrien des Herzens (A+D), des Skelettmuskels (B+E) und der Mitochondrien der Leber (C+F) von adulten und alten Ratten	40
Abbildung 9 – Maximale Respiration der interfibrillären Mitochondrien des Herzens von adulten und alten Ratten.....	42
Abbildung 10 – Maximale Respiration der subsarkolemmalen Mitochondrien des Herzens von adulten und alten Ratten.....	43
Abbildung 11 – Maximale Respiration der interfibrillären Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten.....	45
Abbildung 12 – Maximale Respiration der subsarkolemmalen Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten.....	46
Abbildung 13 – ROS-Produktion isolierter Mitochondrien des Herzens von adulten und alten Ratten	49
Abbildung 14 – ROS-Produktion isolierter Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten.....	51
Abbildung 15 – ROS-Produktion isolierter Mitochondrien der Leber von adulten und alten Ratten	52

Abbildung 16 – Calcium-induziertes Anschwellen der interfibrillären (IFM) und subsarkolemmalen (SSM) Mitochondrien des Herzens (A-D), des Skelettmuskels (E-H) und der Mitochondrien der Leber (I+J) von adulten und alten Ratten.....	53
Abbildung 17 – Aktivität der Superoxiddismutase (SOD; A+D), Katalase (B+E) und Glutathionperoxidase (GPx; C+F) des Herzens von adulten und alten Ratten.....	54
Abbildung 18 – Aktivität der Superoxiddismutase (SOD; A+D), Katalase (B+E) und Glutathionperoxidase (GPx; C+F) des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten.....	55
Abbildung 19 – 4-Hydroxynonenal (HNE; A+C) und Carbonylgehalt (B+D) als Marker oxidativer Schäden im Herzen von adulten und alten Ratten	56
Abbildung 20 – 4-Hydroxynonenal (HNE; A+C) und Carbonylgehalt (B+D) als Marker oxidativer Schäden im Skelettmuskel von adulten und alten Ratten	57
Abbildung 21 – Laufstrecke (A-C) und Laufzeit (D-F) von adulten, alten und seneszenten Ratten	58
Abbildung 22 – Nüchternblutglukosespiegel (A+B) und Fläche unter der Kurve (AUC; B-E) des Glukosetoleranztests von adulten, alten und seneszenten Ratten	59
Abbildung 23 – Herzrate von adulten, alten und seneszenten Ratten.....	60
Abbildung 24 – Körpergewicht (A-C), relatives Ventrikelgewicht (VG, E-D) und relatives Gewicht des Gastrocnemius (M. Gas; G-J) bezogen auf die Tibialänge (TL) von adulten, alten und seneszenten Ratten	61
Abbildung 25 – Citratsynthaseaktivität der Gewebekomogenate des Herzens (A-D), des Skelettmuskels (E-H) und der Leber (I-L) von adulten, alten und seneszenten Ratten.....	62
Abbildung 26 – Maximale Respiration der interfibrillären (IFM) und subsarkolemmalen (SSM) Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Mitochondrien der Leber von alten und seneszenten Ratten.....	64
Abbildung 27 – Maximale Respiration der interfibrillären Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und seneszenten, weiblichen Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit bzw. von adulten und alten, weiblichen Ratten mit niedriger (LCR) körperlicher Leistungsfähigkeit.....	65
Abbildung 28 – Calcium-induziertes Anschwellen der interfibrillären (IFM) und subsarkolemmalen (SSM) Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Mitochondrien der Leber von alten und seneszenten Ratten	67

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 – Echokardiografische Messparameter	20
Tabelle 2 – Übersicht über die Substratzugaben	26
Tabelle 3 – Herkunft der ROS unter verschiedenen Messbedingungen	27
Tabelle 4 – Elektrophoresegelelzusammensetzung	32
Tabelle 5 – Morphologie und Funktion des linken Ventrikels von adulten und alten Ratten..	36
Tabelle 6 – Alter, Tibiallänge und Organgewichte von adulten und alten Ratten	38
Tabelle 7 – Maximale Respiration der Mitochondrien der Leber von adulten und alten Ratten	47
Tabelle 8 – Morphologie und Funktion des linken Ventrikels von alten und seneszenten Ratten	60
Tabelle 9 – Größe und Komplexität der interfibrillären und subsarkolemmalen Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten	63
Tabelle 10 – ROS-Produktion isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten	66
Tabelle 11 – Zeitpunkte einzelner Untersuchungen.....	I
Tabelle 12 – Proteinmengen isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten Ratten.....	I
Tabelle 13 – Citratsynthaseaktivität isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten Ratten.....	II
Tabelle 14 – Größe und Komplexität isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten Ratten	II
Tabelle 15 – Maximale Respiration der Mitochondrien des Herzens von adulten und alten Ratten	III
Tabelle 16 – Maximale Respiration der Mitochondrien des Skelettmuskels von adulten und alten Ratten.....	III
Tabelle 17 – Basale Respiration der Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten, weiblichen Ratten	IV
Tabelle 18 – Basale Respiration der Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten, männlichen Ratten	V
Tabelle 19 – Verhältnis von produziertem Adenosintriphosphat pro verbrauchtem Sauerstoffatom isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten, weiblichen Ratten	VI

Tabelle 20 – Verhältnis von produziertem Adenosintriphosphat pro verbrauchtem Sauerstoffatom isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten, männlichen Ratten	VII
Tabelle 21 – Geschwindigkeit des Calcium-induzierten Anschwellens isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von adulten und alten Ratten	VIII
Tabelle 22 – Alter, Tibialänge und Organgewichte von alten und seneszenten Ratten mit hoher (HCR) körperlicher Leistungsfähigkeit beiden Geschlechts.....	VIII
Tabelle 23 – Proteinmengen isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten	IX
Tabelle 24 – Maximale Respiration der Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten	X
Tabelle 25 – Basale Respiration der Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten	XI
Tabelle 26 – Verhältnis von produziertem Adenosintriphosphat pro verbrauchtem Sauerstoffatom isolierter Mitochondrien des Herzens, des Skelettmuskels und der Leber von alten und seneszenten Ratten.....	XII

Publikation und Präsentationen

Publikation

Heyne E, Schrepper A, Doenst T, Schenkl C, Kreuzer K, Schwarzer M. High fat diet affects skeletal muscle mitochondria comparable to pressure overload-induced heart failure. J Cell Mol Med. 2020; 24: 6741-6749

Vorträge

Heyne E, Färber G, Walther O, Kirov H, Freiburger S, Doenst T, Schwarzer M. Mitochondrial Function in Human Heart Failure is Dependent on Etiology, Severity, and the Presence of Diabetes. Thorac cardiovasc Surg. 2020; 68: DGTHG-V72.

Heyne E, Kreuzer K, Schenkl C, Schrepper A, Freiburger S, Doenst T, Schwarzer M. High Fat Diet Causes Skeletal Muscle Mitochondrial Alterations Comparable to Those in Pressure Overload Induced Heart Failure. 85. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Kardiologie-Herz- und Kreislaufforschung vom 24. bis 27. April 2019 in Mannheim. Clinical Research in Cardiology. 2019

Heyne E, Schwarzer M, Zeeb S, Koch LG, Britton LS, Doenst T. Differential Effects of Exercise on Interfibrillar and Subsarcolemmal Skeletal Muscle Mitochondria. Thorac cardiovasc Surg. 2019; 67: DGTHG-V85.

Schwarzer M, Zeeb S, **Heyne E**, Koch LG, Britton LS, Doenst T. Differences in Skeletal and Heart Muscle Mitochondrial Function in Response to Intrinsic and Acquired Exercise Capacity. Thorac cardiovasc Surg. 2019; 67: DGTHG-V89.

Heyne E, Schwarzer M, Schenkl C, Kreuzer K, Schrepper A, Doenst T. Detrimental Effects of Metformin on Mitochondrial Function in Healthy Rats. Thorac cardiovasc Surg. 2019; 67: DGTHG-V235.

Färber G, **Heyne E**, Kirov H, Jacoub K, Schwarzer M, Doenst T. Mechanical Unloading of the Human Left Ventricle Reduces Maximal Respiratory Chain Capacity but Optimizes ATP Producing Machinery. Thorac cardiovasc Surg. 2019; 67: DGTHG-V180.

Heyne E, Schwarzer M, Zeeb S, Färber G, Koch LG, Britton S, Doenst T. High aerobic exercise is associated with elevated mitochondrial respiratory capacity in skeletal muscle but not in the heart - 84. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Kardiologie- Herz- und

Kreislaufforschung vom 4. bis 7. April 2018 in Mannheim. Clinical Research in Cardiology. 2018; 107: 1-.

Schenkl C, Wildgrube M, Ackermann P, Schrepper A, **Heyne E**, Schwarzer M, Britton S, Koch LG, Doenst T. High and low intrinsic exercise capacity under pressure overload – impact on survival and cardiac & mitochondrial function - 84. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Kardiologie- Herz- und Kreislaufforschung vom 4. bis 7. April 2018 in Mannheim. Clinical Research in Cardiology. 2018; 107: 1-.

Färber G, **Heyne E**, Schwarzer M, Kirov H, Diab M, Doenst T. Similar Patterns of Mitochondrial Dysfunction in Heart Failure of Rats and Humans. Thorac cardiovasc Surg. 2017; 65: OP199.

Heyne E, Schwarzer M, Doenst T. High Genetically Determined Exercise Capacity Prevents the Loss of Mitochondrial Function in Advanced Age. Thorac cardiovasc Surg. 2017; 65: OP262.

Heyne E, Schwarzer M, Werner C, Schrepper A, Doenst T. Beneficial Effects of Metformin on Mitochondrial Function and Survival in Pressure Overload are Abolished by High Fat Diet in Rats. Thorac cardiovasc Surg. 2016; 64: OP240.

Wildgrube M, Schwarzer M, **Heyne E**, Schrepper A, Werner C, Doenst T. The Influence of a High Fat Diet and Metformin Treatment on the Activity of Respiratory Chain Complexes. Thorac cardiovasc Surg. 2016; 64: OP238.

Poster

Heyne E, Färber G, Schwarzer M, Doenst T. Mitochondrial function in the failing human heart has regional dependence. 17th Annual Scientific Sessions of the Society for Heart and Vascular Metabolism. Amsterdam (Netherlands), 2019.

Heyne E, Schwarzer M, Britton SL, Koch LG, Doenst T. Female rats are running faster than their male counterparts despite reduced mitochondrial function. 16th Annual Scientific Sessions of the Society for Heart and Vascular Metabolism. Charleston (South Carolina, United States), 2018.

Heyne E, Schwarzer M, Britton SL, Koch LG, Doenst T. Higher exercise capacity of old female compared to male rats with genetically determined exercise capacity is not related to higher mitochondrial function. 1st Jena Aging Meeting - JAM. Jena (Germany), 2018.

Schwarzer M, Zeeb S, **Heyne E**, Koch LG, Britton SL, Doenst T. Differential response of skeletal muscle mitochondria in response to exercise training depending on their intracellular localization. Euromit - International meeting on mitochondrial pathology. Cologne (Germany), 2017.

Heyne E, Schwarzer M, Schrepper A, Zeeb S, Britton SL, Koch LG, Doenst T. Low intrinsic exercise capacity is associated with advanced mitochondrial dysfunction during aging. 15th Annual Scientific Sessions of the Society for Heart and Vascular Metabolism. Weimar (Germany), 2017.

Heyne E, Schwarzer M, Schrepper A, Zeeb S, Doenst T. Advanced mitochondrial dysfunction in rats with low intrinsic aerobic exercise capacity is associated with premature death - 83. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Kardiologie- Herz- und Kreislaufforschung vom 19. bis 22. April 2017 in Mannheim. Clinical Research in Cardiology. 2017; 106: 1-.

Werner C, Schrepper A, **Heyne E**, Schwarzer M, Britton SL, Koch LG, Doenst T. Low genetically determined exercise capacity protects cardiac and mitochondrial function during pressure overload. 14th Annual Scientific Sessions of the Society for Heart and Vascular Metabolism. Beijing (China), 2016.

Schrepper A, Werner C, **Heyne E**, Schwarzer M, Marx J, Koch LG, Britton SL, Doenst T. P453 - Impact of genetic predisposition on sepsis severity and survival. Clinical Research in Cardiology. 2016; 105: 1-.

Heyne E, Schrepper A, Werner C, Kreuzer K, Schwarzer M, Doenst T. High fat diet blunts the impact of metformin on survival and mitochondrial function in pressure overloaded rats. 13th Annual Scientific Sessions of the Society for Heart and Vascular Metabolism. Tarrytown, New York, (USA), 2015.

Schrepper A, Werner C, **Heyne E**, Schwarzer M, Koch LG, Britton SL, Doenst T. Impact of genetic predisposition for high exercise capacity on sepsis severity and survival. 13th Annual Scientific Sessions of the Society for Heart and Vascular Metabolism. Tarrytown, New York, (USA), 2015.

Heyne E, Schwarzer M, Schrepper A, Werner C, Doenst T. Mitochondrial defects in the context of high fat diet and metformin treatment. 12th Annual Scientific Sessions of the Society for Heart and Vascular Metabolism. Tromsø (Norway), 2014.

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Torsten Doenst für die Möglichkeit diese Arbeit in der Herz- und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikum in Jena anzufertigen und für die lehrreichen Gespräche.

Besonderer Dank geht an Herrn Dr. Michael Schwarzer für die außerordentliche wissenschaftliche Unterstützung. Sowohl auf persönlicher Ebene als auch in Bezug auf diese Arbeit stand er mir immer mit Rat und Tat zur Seite.

Frau Prof. Dr. Britt Wildemann und Herrn Dr. Volker Adams danke ich für ihre wissenschaftlichen Beiträge und Hilfsbereitschaft.

Großer Dank gilt auch meinen Freunden/Kollegen aus der Arbeitsgruppe der Herz- und Thoraxchirurgie für die wissenschaftlichen Diskussionen, die motivierende Zusammenarbeit und die schönen Stunden nach getaner Arbeit. Frau Dr. Andrea Schrepper und Frau Dr. Christina Schenkl und haben einen ganz besonderen Anteil daran.

Meinen Eltern, meinem Partner und meinen Freunden danke ich sehr für die allgegenwärtige Unterstützung und ihren Glauben an mich.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Person bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt hat: PD Dr. rer. nat. habil. Michael Schwarzer,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers